

Diana Couto Pinto

A toxina botulínica:  
passado, presente e futuro

Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Outubro 2014



A toxina botulínica: passado, presente e futuro

Diana Couto Pinto

A toxina botulínica:  
passado, presente e futuro

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, Outubro 2014

A toxina botulínica: passado, presente e futuro

Diana Couto Pinto

A toxina botulínica:  
passado, presente e futuro

Trabalho apresentado à Universidade  
Fernando Pessoa como parte dos requisitos  
para a obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas

---

## Sumário

A toxina botulínica, é um dos venenos mais potentes conhecidos e é o agente responsável pelo botulismo, doença rara mas que pode ser fatal. É produzida pelo *Clostridium botulinum* e atua primeiramente no bloqueio da libertação da acetilcolina, bloqueando deste modo a transmissão sináptica excitatória nas junções neuromusculares. Os sintomas começam com náuseas, vômitos, diarreias, visão dupla, fraqueza muscular, incapacidade de deglutir, dificuldade na fala, podendo levar à morte por falência respiratória. O botulismo pode ser de quatro tipos: a intoxicação alimentar, botulismo de feridas, botulismo infantil e o botulismo causado por colonização intestinal.

A toxina foi usada pela primeira vez com sucesso na prática clínica em 1978 pelo oftalmologista Dr. Alan Scott em pacientes com estrabismo. A partir daí numerosos estudos e indicações terapêuticas se seguiram. Hoje em dia existem várias preparações comerciais, sendo o Botox®, a mais conhecida. A toxina é usada atualmente em áreas como a cosmética, dermatologia, ortopedia, otorrinolaringologia, dor, pediatria, reabilitação e urologia. Com todo o interesse que há em torno da toxina botulínica, os estudos sobre novas aplicações e usos para a toxina continuam, abrangendo cada vez mais diferentes áreas, muito devido às propriedades químicas únicas da toxina, que com certeza nas próximas décadas continuará a surpreender com novas aplicações na área de saúde.

**Palavras-chave:** toxina botulínica; passado; botox; aplicações; futuro.

## **Abstract**

The botulinum toxin is one of the most potent poisons known and is the agent responsible for botulism, a rare but fatal disease. It is produced by *Clostridium botulinum* and acts primarily in blocking the release of acetylcholine, thereby blocking the excitatory synaptic transmission at the neuromuscular junctions. The symptoms begin with nausea, vomiting, diarrhea, double vision, muscle weakness, inability to swallow, speech difficulty, and may lead to death by respiratory failure. There are four types of botulism: food poisoning, wound botulism, infant botulism and the botulism caused by intestinal colonization.

The toxin was first successfully used in clinical practice in 1978 by ophthalmologist Dr. Alan Scott in patients with strabismus. Thereafter numerous studies and indications followed. Nowadays there are several commercial preparations being Botox®, the most known. The toxin is currently used in areas such as cosmetic, dermatology, orthopedics, otolaryngology, pain, pediatrics, rehabilitation and urology. With all the interest around the botulinum toxin, studies on new applications and uses for the toxin continue to increase in different areas, largely due to the unique chemical properties of the toxin, which for sure will continue to surprise us in the coming decades with new applications in healthcare.

**Key-words:** botulinum toxin; past; botox; uses; future.

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, por todo o apoio ao longo destes anos e aos meus amigos pela paciência e ajuda.

Ao Dr. Edgardo Malheiro pela ajuda preciosa e pela cooperação.

À Prof. Dra. Cristina Pina, pela força, cooperação e pelo exemplo de incrível profissionalismo, humanidade e coragem.

## Índice

<b>I.</b>	<b>Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>De veneno a remédio .....</b>	<b>3</b>
<b>III.</b>	<b><i>Clostridium botulinum</i> .....</b>	<b>6</b>
1.	<i>Características microbianas</i> .....	6
2.	<i>Patogenia</i> .....	7
3.	<i>Manifestações clínicas</i> .....	8
4.	<i>Prevenção e dados epidemiológicos</i> .....	8
5.	<i>Exames de diagnóstico laboratorial</i> .....	10
6.	<i>Tratamento</i> .....	11
<b>IV.</b>	<b>A toxina botulínica .....</b>	<b>12</b>
1.	<i>O Botox®</i> .....	19
<b>V.</b>	<b>Aspectos clínicos .....</b>	<b>21</b>
1.	<i>Tipos de pacientes</i> .....	21
2.	<i>Previsão e avaliação da resposta</i> .....	23
3.	<i>Falha de resposta</i> .....	23
4.	<i>Efeitos secundários</i> .....	24
<b>VI.</b>	<b>Usos clínicos .....</b>	<b>27</b>
1.	<i>Distonias</i> .....	27
2.	<i>Tremores</i> .....	32
3.	<i>Espasmo hemifacial</i> .....	33
4.	<i>Espasticidade</i> .....	35
5.	<i>Oftalmologia</i> .....	37
6.	<i>Desordens secretórias</i> .....	40
7.	<i>Dor</i> .....	43



8.	<i>Gastrointestinal</i> .....	46
9.	<i>Urologia</i> .....	47
10.	<i>Cosmética</i> .....	49
11.	<i>Outras aplicações</i> .....	54
<b>VII.</b>	<b>O futuro da toxina botulinica</b> .....	<b>56</b>
<b>VIII.</b>	<b>Conclusão</b> .....	<b>58</b>
<b>IX.</b>	<b>Bibliografia</b> .....	<b>59</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> - Dr. Justinus Kerner .....	4
<b>Figura 2</b> - <i>Clostridium botulinum</i> .....	6
<b>Figura 3</b> - Estrutura da toxina botulínica .....	12
<b>Figura 4</b> - Modo de ação da toxina botulínica .....	13
<b>Figura 5</b> - Estrutura da toxina botulínica .....	14
<b>Figura 6</b> - Estrutura da toxina botulínica e a sua atividade ao nível da membrana .....	15
<b>Figura 7</b> - Mecanismo de ação da toxina botulínica .....	18
<b>Figura 8</b> - Botox®, Dysport® e Xeomin® .....	20
<b>Figura 9</b> - Tipos de distonias .....	27
<b>Figura 10</b> – Blefaroespasma .....	29
<b>Figura 11</b> - Distonia dos membros .....	31
<b>Figura 12</b> - Espasmo hemifacial .....	34
<b>Figura 13</b> - Paciente com espasticidade .....	35
<b>Figura 14</b> - Tipos de estrabismo .....	38
<b>Figura 15</b> – Ptose .....	39
<b>Figura 16</b> – Hiperhidrose .....	41
<b>Figura 17</b> - Teste de Minor na hiperhidrose axilar .....	43
<b>Figura 18</b> - Acalásia .....	46
<b>Figura 19</b> - Pontos de aplicação da BoNT-A na zona glabellar, linhas da testa e pés-de-galinha .....	50
<b>Figura 20</b> - Antes e depois da aplicação da BoNT-A nas linhas glabellares e da testa...	51

<b>Figura 21</b> - a) locais da injeção com BoNT-A; b) antes e depois da aplicação da BoNT-A no platisma .....	52
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

<b>Figura 22</b> - Locais de aplicação do Botox® nas rugas laterais orbiculares (antes e depois) .....	53
--------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## **Índice de tabelas**

<b>Tabela 1</b> - Guidelines para doses e número de injeções .....	56
--------------------------------------------------------------------	----

## **Lista de abreviaturas**

BoNT - Toxina botulínica

BoNT-A -Toxina botulínica tipo A

BoNT-B - Toxina botulínica tipo B

BoNT-C - Toxina botulínica tipo C

BoNT-D - Toxina botulínica tipo D

BoNT-E - Toxina botulínica tipo E

BoNT-F - Toxina botulínica tipo F

BoNT-G - Toxina botulínica tipo G

DLA - Análise linear direta

ADN - Ácido desoxirribonucleico

DVE - Dissinergia do detrusor-esfíncter

EMG - Eletromiografia

FDA - Food and drug administration

Hc - Cadeia pesada

Hi - Cadeia leve

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

LOC - Lab-on-a-chip

MEPPs - Potenciais excitatórios pós-sinápticos

NBD - Disfunção neurogénica da bexiga

PCR - Reação em cadeia da polimerase

SNAP-25 - Proteína sinaptossomal

SNARE - Complexos de proteínas

VAMP - Proteína de membrana associadas a vesículas

## I. Introdução

“ A descoberta consiste em ver o que todos viram e em pensar no que ninguém pensou”.

Szent- Gyorgyi (Nobel Medicina em 1937) (<http://profiles.nlm.nih.gov/WG/>)

Desde os mais antigos relatos sobre o botulismo, na altura chamado de envenenamento por salsicha, que se pensava que a toxina que o causava poderia ser usada no futuro para tratar condições originadas por hiperexcitabilidade. Em 1895, o Prof. Emile Van Ermengem isolou pela primeira vez o bacilo causador da doença, o *Clostridium botulinum*.

O botulismo continua a ser uma doença rara mas mortal que pode resultar da ingestão, colonização intestinal ou infecção de feridas. Os sintomas vão desde fraqueza muscular até falência respiratória. A maior parte dos casos de botulismo deu-se no início dos anos vinte, devido ao aumento da indústria dos alimentos de conserva. A toxina botulinica é uma proteína produzida pela bactéria, sendo dos venenos mais potentes que se conhece na natureza. Ela inibe a libertação da acetilcolina, promovendo assim uma paralisia no músculo.

Originalmente usada por Scott et alli para o tratamento do estrabismo e blefaroespasma, a toxina botulinica é usada hoje em dia como terapia para variadas condições. Revolucionou o tratamento de muitas doenças neurológicas e oftálmicas. A toxina botulinica é usada na cosmética, dermatologia, ortopedia, otorrinolaringologia, dor, pediatria, reabilitação e urologia. É tratamento de primeira linha no blefaroespasma, espasmo hemifacial, e distonia cervical.

A toxina botulinica tem sido usada terapeuticamente há mais de trinta anos com muito poucos efeitos adversos quando utilizada de forma adequada e por especialistas. Existem várias preparações comerciais em todo o mundo, que são idênticas, no entanto os resultados de umas não se podem extrapolar para outras.

Neste trabalho foi realizada uma pesquisa bibliográfica de modo a atingir os seguintes objectivos: uma revisão histórica e atual da toxina botulinica, a caracterização da bactéria *Clostridium botulinum*, o mecanismo de ação da toxina botulinica, a identificação das áreas terapêuticas onde a toxina botulinica é útil, assim como as indicações clínicas e os resultados do seu uso e as áreas de aplicação terapêutica nos dias de hoje e quais as previsões do seu uso no futuro.

Mesmo com todos os avanços na tecnologia na área da saúde, há condições que o homem não consegue prever ou evitar. Assim, num mundo onde algumas doenças incapacitam a vida de milhares de pessoas e trazem sofrimentos aos mesmos e aos familiares, a toxina botulinica surge como uma solução surpreendente e inovadora para determinadas patologias, para a área da tecnologia farmacêutica e sobretudo para os utentes que a usam como terapia e vêm a sua qualidade de vida melhorar consideravelmente.



## II. De veneno a remédio

De acordo com o Dr. Brunno Rosique, tudo começou durante a Guerra Napoleónica (1795-1813), na qual os problemas económicos levaram à negligência nas medidas sanitárias de controlo da produção rural de alimentos, o que contribuiu para uma epidemia conhecida por “envenenamento por salsicha”, hoje denominada de botulismo (Ting e Freiman, 2004). Entre os sintomas apresentados pelas vítimas, estavam a midríase, a paralisia muscular progressiva e morte (Sobel, 2005).

No entanto, foi Justinus Andreas Christian Kerner (1786 - 1862) médico e poeta alemão, o primeiro a publicar detalhadamente entre 1817 e 1822 os sintomas clínicos do botulismo. Em 1822, numa segunda monografia sobre o tema da toxina das salsichas de sangue (blunzen), Kerner (Figura 1) resumizou o seu trabalho e hipóteses para a doença contendo avaliações clínicas de 155 casos de pacientes com botulismo, incluindo estudos *post-mortem*, experiências com animais e ainda nele próprio (Byers, 2010) (Moore e Naumann, 2003). Das suas observações inferiu as seguintes conclusões: a toxina desenvolvia-se em salsichas azedas em condições anaeróbias; tinha a capacidade de interromper a transmissão motora no sistema nervoso periférico e autónomo e apresentava-se letal em pequenas doses. Também nessa mesma monografia, Kerner discutiu a possibilidade de se usar a toxina em pequenas doses para o tratamento de determinadas doenças (Ting e Freiman, 2004).



**Figura 1** - Dr. Justinus Kerner (adaptado de <http://brunnorosique.blogspot.pt/>)

O termo botulismo (do latim *botulus* = salsicha) foi usado pela primeira vez em 1870 pelo médico alemão Muller para descrever o envenenamento por salsichas. Em 1885 Emile Van Ermengem (1851-1922), um microbiólogo discípulo de Robert Koch, relacionou a epidemia do botulismo ocorrida num funeral numa vila belga, com uma bactéria encontrada nos alimentos servidos no evento, no qual 34 pessoas foram contaminadas e 6 morreram. Era o *Bacillus botulinus*, mais tarde chamado de *Clostridium botulinum* (Byers, 2010). Emile Van Ermengem injetou e alimentou pequenos animais com o presunto restante da cerimónia do funeral e verificou que estes apresentavam os sintomas típicos do botulismo (Moore e Naumann, 2003).

Em 1920 o Dr. Hermann Sommer tenta pela primeira vez purificar a toxina tipo A e o seu trabalho serve de base para outros que se seguiram nesta área, especialmente durante a segunda guerra mundial onde foi supostamente planeado o seu uso como arma biológica (Byers, 2010). Burgen descobre em 1949 que a toxina botulínica (BoNT) bloqueia a libertação da acetilcolina nas junções neuromusculares, e em 1972 durante a presidência de Nixon, os EUA juntamente com mais 110 países concordam na

destruição de todas as armas biológicas assinando um tratado na Convenção de armas e toxinas biológicas (Moore e Naumann, 2003).

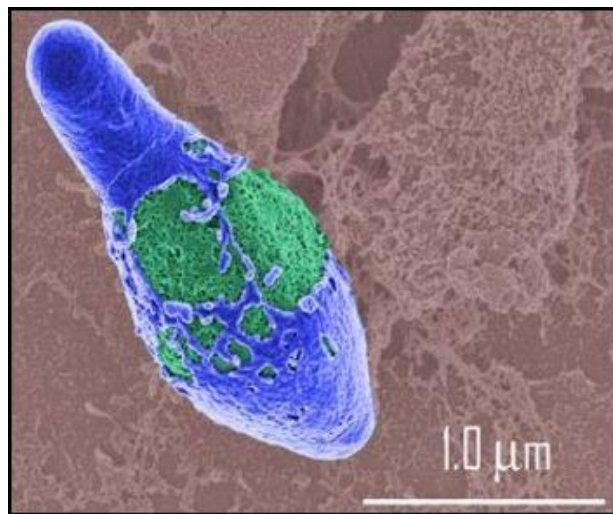
Alan Scott, oftalmologista americano ao investigar em 1973 alternativas não cirúrgicas para o tratamento do estrabismo e após várias experiências em animais com a toxina botulínica do tipo A (BoNT-A), decide fazer um ensaio clínico com os seus pacientes entre 1977 e 1978 que revelou resultados surpreendentes, de tal forma que em 1982 recebeu autorização da FDA (Food and Drug Administration) para organizar um ensaio clínico com 7000 pacientes. Nesse mesmo ano, também tratou pacientes com espasticidade, estigmatismo, torcicolos e espasmo hemifacial (Lowe, 1998) (Carruthers e Carruthers, 1998).

Em 1987 uma paciente da Dra. Jean Carruthers (oftalmologista) com blefaroespasma e que era tratada com toxina botulínica pergunta-lhe se não poderia injectar a toxina na zona de sobrolho, já que dias após os tratamentos, as rugas dos olhos diminuía consideravelmente. A Dra. Jean leva a ideia para casa e partilha com o marido, o dermatologista Alastair Carruthers que tinha então muitos pacientes que se queixavam de resultados não satisfatórios no combate as rugas. Após a apresentação num congresso em 1991 e a publicação dos resultados de experiências feitas na própria Jean e na sua secretária em 1992, a BoNT-A foi alvo de mais estudos e experiências na área da cosmética. Nos Estados Unidos, foi aprovada em 2002 pela FDA para o uso cosmético (Carruthers e Carruthers, 2013).

### ***III. Clostridium botulinum***

#### **1. Características microbianas**

O *Clostridium botulinum* é um bacilo de grandes dimensões (Figura 2), Gram positivo, catalase negativo, anaeróbio estrito, geralmente encontrado no solo em sedimentos aquáticos e, por vezes, em fezes de animais (Sobel, 2005) (Allen e Baron, 1999). Este bacilo é formador de esporos extremamente resistentes ao calor, suportando temperaturas até 100°C durante 3 a 5 horas, a desinfetantes químicos, assim como às radiações ultra-violeta. Sob condições apropriadas, como um ambiente estritamente anaeróbio em pH neutro ou alcalino, o microrganismo germina produzindo uma toxina durante o crescimento vegetativo, a qual se denomina de toxina botulínica (Strohl, Rouse e Fisher, 2004).



**Figura 2-** *Clostridium botulinum* (adaptado de <http://www.foodsafetycounsel.com/common-pathogens/clostridium-botulinum-images/>)

## 2. Patogenia

Esta bactéria é responsável pelo botulismo, doença rara mas ocasionalmente fatal e tem distribuição mundial. Apesar de ser implicado em algumas infeções de feridas, a doença mais frequente é uma intoxicação alimentar devido à ingestão de alimentos contaminados nos quais *C.botulinum* produz a toxina (Byers, 2010).

Os tipos de *C. botulinum* distinguem-se pelo tipo de toxina que produzem. Para além de diversos tipos de toxina, de A à G, existem também quatro tipos de botulismo:

1. A **intoxicação alimentar clássica**, que atingiu entre 1990 e 2000 uma média de 23 casos por ano nos Estados Unidos da América (Chalk, Benstead e Keezer, 2011) (Sobel, 2005).
2. O **botulismo de feridas**, o tipo mais raro da doença, na qual a toxina é produzida já *in vivo* após o crescimento da bactéria numa ferida infetada, sendo comumente encontrada entre utilizadores de drogas injectáveis como a heroína preta, um tipo de preparação na qual a heroína é introduzida nos tecidos em vez das veias. Muito raramente é encontrada em não utilizadores de drogas. Os sintomas não se distinguem dos da intoxicação alimentar exceto na ausência de sintomas gástricos, e muitas vezes as feridas são muito pequenas difíceis de serem notadas. A toxina mais comum é do tipo A e raramente o tipo B (Byers, 2010) (Sobel, 2005).
3. O **botulismo do lactente**, que ocorre até aos doze meses, na qual a toxina é também produzida *in vivo* no trato gastrointestinal quando o bebé é colonizado no intestino com *C. botulinum*. É a forma mais frequente de botulismo nos Estados Unidos (71 casos anuais) e raro nos outros países (talvez pela dificuldade no diagnóstico). É sobretudo causado pelo tipo A e B. Pensa-se que a principal causa é o consumo de mel e milho pelas crianças, pelo que não se recomendam estes alimentos às crianças com menos de 1 ano. (Chalk, Benstead e Keezer, 2011) (Byers, 2010) (Sobel, 2005).
4. O **botulismo causado por colonização intestinal em adultos e crianças** (acima dos doze meses), muitas vezes associados a cirurgias e administração de antibióticos. Recentemente o *C. botulinum* foi isolado de pacientes com *C. difficile*, infeções virais e doença de Chron (Byers, 2010).

### **3. Manifestações clínicas**

No caso de intoxicação nos adultos, os sintomas aparecem 18 a 24h após a ingestão do alimento e consistem em sintomas gastrointestinais como náuseas, vômitos e diarreias (Byers, 2010). Seguem-se os sinais neurológicos como distúrbios visuais nomeadamente, visão turva, fotofobia, incapacidade de deglutir e dificuldade na fala (Chalk, Benstead e Keezer, 2011). Não há febre e o paciente permanece sempre consciente, podendo ocorrer crises de ansiedade graves (quando o paciente percebe o que está a acontecer) e em última instância morte por paralisia respiratória.

No caso de botulismo do lactente, que ocorre a partir das três semanas de vida, a toxina produzida é absorvida lentamente ocorrendo diminuição da mobilidade intestinal, levando a obstipação. Há fraqueza, letargia, dificuldade na alimentação e no choro (Byers, 2010) (Sobel, 2005). Mais tardiamente ocorre flacidez na expressão facial e insuficiência respiratória e incapacidade em engolir, necessitando de intubação. No caso do botulismo do lactente os sintomas tanto podem ser leves sem necessidade de hospitalização, como podem ser graves e em alguns casos podem até levar à morte, sendo muitas vezes responsável pela morte súbita do bebé (Allen e Baron, 1999).

### **4. Prevenção e dados epidemiológicos**

Como os esporos estão amplamente distribuídos, em condições apropriadas já descritas acima, contaminam legumes, frutas e outros produtos quando estes são enlatados ou conservados de maneira errada. Estes alimentos devem ser sempre fervidos durante 20 minutos antes de serem consumidos. Alimentos enlatados em casa como milho, vagens, pimentos, azeitonas, ervilhas ou peixe fresco embalado em vácuo são os principais causadores de intoxicações (Sobel, 2005).

Nos EUA entre 1973 e 1977, registaram-se 294 episódios de intoxicação por *Clostridium botulinum*, sendo que 128 relacionaram-se com o consumo de vegetais, 47 de peixes, 16 de carnes, 5 de produtos lácteos, 3 de comida mexicana e os demais por outros tipos de alimentos (Gelli et alli, 2002). Em 1996, um episódio de botulismo

afetou oito jovens na Itália. O alimento suspeito foi o queijo cremoso industrializado (Mascarpone). A toxina do tipo A foi encontrada em algumas amostras do queijo (Aureli et alli, 2002).

Entre 1993 e 1996, foram identificados 70 casos na França. O alimento com maior impacto para saúde humana foi o presunto, mas a carne de porco cozida, vegetais enlatados e mariscos também foram implicados. Em 50% dos casos eram preparações caseiras (Leclerc et alli, 2002). Em fevereiro de 2002, dois irmãos sul-africanos, com idade de oito e 12 anos, desenvolveram uma paralisia flácida aguda e morreram. Bioensaios em ratinhos revelaram a presença da toxina do tipo A no soro das duas crianças e nos restos do alimento implicado (peixe enlatado com molho de tomate) (Frean et alli, 2004).

Em Portugal ocorreram 5 casos de botulismo alimentar: 3 de forma isolada e 2 simultâneos em indivíduos da mesma família. Quatro associaram-se à ingestão de presunto e um à ingestão de atum enlatado (Cardoso et alli, 2004).

Na Polônia no ano 2000 foram registados 72 casos de botulismo. Derivados cárneos foram os principais veículos da toxina botulínica (56,9%). Destes, prevaleceram as conservas caseiras preparadas com carne de porco (18,1%). Salsichas caseiras estiveram associadas com 13,9% dos casos, peixe enlatado com 12,5%, salsichas produzidas comercialmente em 12,5% dos casos e derivados de carne de frango em 11,1%. Já no ano de 2002, foram registrados 85 casos de botulismo transmitido por alimentos. Os derivados cárneos mais uma vez foram os principais veículos da toxina botulínica (68,2%), sendo os mais comuns, conservas caseiras preparadas com carne de porco (23,5%) e salsichas produzidas comercialmente (20%) (Cereser et alli, 2008).

Estes são alguns casos que foram registados pelas autoridades competentes dos países em questão. No entanto, a maior parte de intoxicações por botulismo não são comunicadas às entidades reguladoras dos países onde ocorrem, ficando apenas os episódios registados nos hospitais, não permitindo assim a existência de dados oficiais atualizados sobre estas ocorrências.

## **5. Exames de diagnóstico laboratorial**

A toxina pode ser encontrada no soro, conteúdo gástrico, fezes ou ainda em restos de alimentos mediante hemaglutinação ou radioimunoensaio. Podem ser usados bioensaios envolvendo injeções intraperitoniais a ratos observando assim os seus efeitos. No botulismo do lactente, a toxina encontra-se no conteúdo intestinal e não no soro (Sobel, 2005). A bactéria pode ser cultivada e identificada por métodos anaeróbios-padrão (Strohl, Rouse e Fisher, 2004). No entanto, estes são usados sobretudo para confirmar diagnósticos em intoxicações hospitalares e são morosos.

Quando há urgência em descobrir o agente patológico, ou mesmo do subtipo de toxina, o PCR é o método mais comumente usado, no entanto, existem métodos já mais específicos. Os estudos metagenômicos de análise de sequências de ADN são mais caros, mas tem maior sensibilidade e resolução sendo a abordagem mais confiável. (Eikmeyer et al, 2013).

Outros métodos têm sido apresentados nos últimos anos entre os quais alguns mais específicos e mais caros estando já a ser usados nos laboratórios da FDA enquanto outros são usados em locais onde não há a possibilidade de existirem laboratórios especializados para pesquisa da BoNT-A e B. Métodos como espectrofotometria de fluorescência ligada a uma webcam, microscópios de fluorescência com webcams para exames anatomopatológicos dos tecidos da mucosa do cólon, lab-on-a-chip, o qual permite elaborar um ensaio imunoabsorvente ligado a uma enzima e outros testes imunológicos ou enzimáticos, não necessitam de laboratórios especializados e equipamento complexo (Balsam et al, 2013). O lab-on-a-chip (LOC) é um dispositivo de laboratório-on-a-chip de microfluídica (LOC-DLA) que integra dois ensaios exclusivos para a detecção de organismos patogênicos: análise linear direta (DLA), com especificidade incomparável para ameaças bacterianas e ADN de vírus (Meltzer et al, 2011). O LOC consegue detectar concentrações de toxina de 1 picograma em apenas 1µl de amostra em quinze minutos, sendo por isso o método de eleição hoje em dia em laboratórios para a pesquisa da toxina botulínica (Lillehoj, Wei e Ho, 2010).



## 6. Tratamento

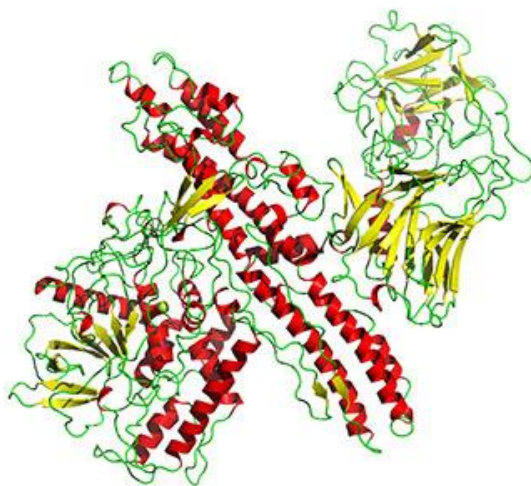
Administra-se uma antitoxina trivalente (A, B e E) por via intravenosa, já que o tipo para cada caso costuma ser desconhecido. Deve ser administrada de preferência nas primeiras 24h já que só vai atuar sobre a toxina que ainda não se ligou às junções neuromusculares. Deve manter-se ventilação adequada sempre que necessário. Estas medidas reduzem a taxa de mortalidade de 65% para menos de 25% (Sobel, 2005). No caso do botulismo do lactente foi aprovada pela FDA uma imunoglobulina humana (BabyBig), que é obtida através do sangue do plasma de adultos humanos imunizados com toxóide pentavalente botulínica que neutraliza a toxina tipo A e B e que resulta em reduções significativas na duração da hospitalização, ventilação mecânica, alimentação parentérica e diminuição na duração média do internamento de 3,5 semanas (Chalk, Benstead e Keezer, 2011).

No botulismo de ferimentos, a infeção pode ser tratada com penicilina e outros antibióticos aos quais o *C.botulinum* é sensível (Allen e Baron, 1999).

#### IV. A toxina botulinica

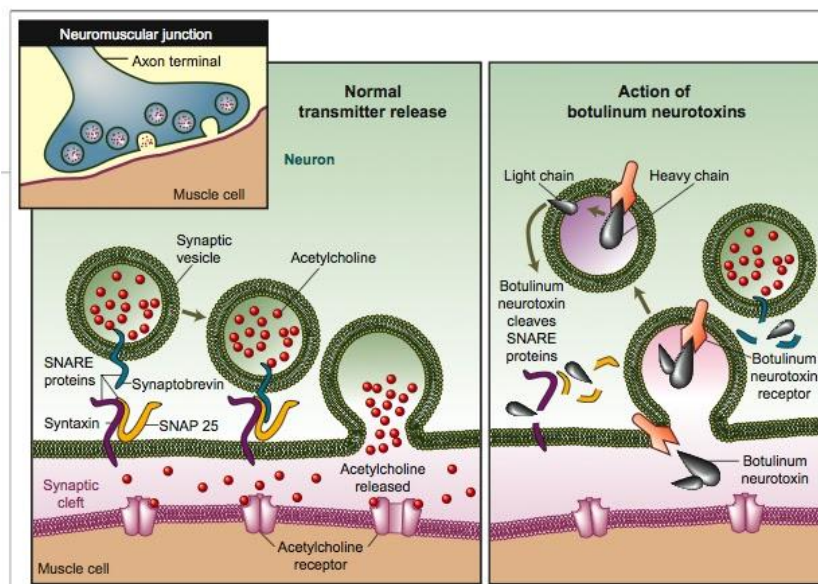
O *Clostridium botulinum* produz um dos mais potentes venenos conhecidos (Hambleton, 1992). A dose letal intravenosa é de 0.8 até 0.9 ng por kg de peso corporal e a dose letal oral varia entre 0,2 a 1 µg por kg (Byers, 2010) (Sobel, 2005). Alguns autores estimam que apenas 1gr de aerossol de toxina poderia levar à morte de mais de 1,5 milhões de pessoas (Chalk, Benstead e Keezer, 2011).

Existem sete variedades de toxina conhecidas, de A a G, mas todas têm pesos moleculares e estruturas moleculares semelhantes (Hambleton, 1992). As toxinas são classificadas com base na ausência de neutralização cruzada, ou seja, a antitoxina anti-A não neutraliza a neurotoxina do tipo B (e assim deste modo até à G). No entanto, existem já múltiplos subtipos dos serótipos num total de 17 já identificados (Wortzman e Pickett, 2009). Os humanos podem ser afectados por cinco tipos de toxina (A, B, E, F e G) mas não são afectados pelas C e D. Os tipos A, B e E constituem as principais causas de doença humana, sendo que os tipos A e B foram associados a vários alimentos, enquanto o E predomina em produtos à base de peixe (Freeman e Cohen, 2008).



**Figura 3-** Estrutura da toxina botulinica (adaptada de <http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=426#>)

A toxina botulinica (Figura 3) é uma exotoxina libertada apenas aquando a lise da bactéria (Panicker e Muthane 2003). É uma neurotoxina pré-sináptica que causa fraqueza muscular dose-dependente no músculo esquelético, através do bloqueio cálcio-dependente de libertação de acetilcolina nos terminais, impedindo assim a transmissão do impulso nervoso à placa motora do músculo. A toxina botulínica liga-se irreversivelmente à membrana neuronal, na terminação nervosa a nível da junção neuromuscular, e desloca-se para o citoplasma do terminal axónico, onde bloqueia a transmissão sináptica excitatória (Figura 4), provocando paralisia flácida (Hambleton, 1992).

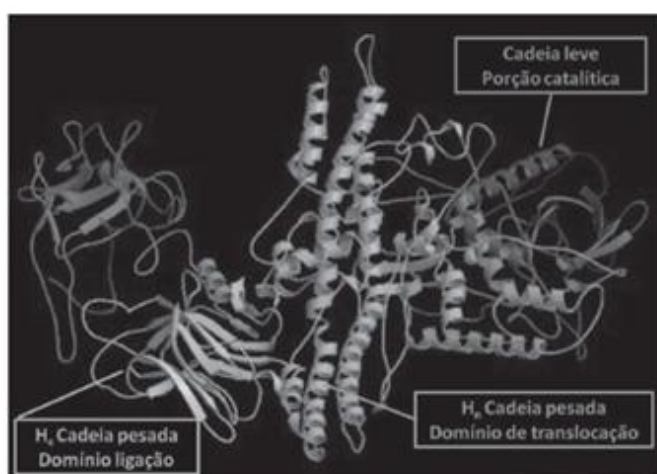


**Figura 4** - Modo de ação da toxina botulinica (adaptado de <http://clinicafb.blogspot.pt/2012/03/toxina-botulinicavoce-ainda-vai-usar.html>)

Todos os tipos de neurotoxina são sintetizados como polipéptidos simples inativos, que são libertados após lise da bactéria e só se tornam ativos quando proteases bacterianas quebram a molécula (Montal, 2010).

## Estrutura da toxina

A toxina botulínica inclui três proteínas chaves: uma proteína de 150-kDa, uma hemaglutinina não tóxica, e uma proteína não-hemaglutinina não tóxica. As proteínas não tóxicas promovem à toxina proteção contra temperatura e ação enzimática do estômago (Freeman e Cohen, 2008). A toxina *per se* é uma cadeia proteica simples com peso molecular de 150kDa, composta por duas proteínas: uma de peso molecular de 100kDa – a cadeia pesada (Hc), responsável pela ligação ao motoneurônio e outra de 50kDa – a cadeia leve (Lc) responsável pela toxicidade (Figura 5). Estão ligadas por pontes de dissulfeto e ligações não covalentes (Montal, 2010) (Wortzman e Pickett, 2009). A proteína de 150 kDa só é ativa depois de clivada e origina três fragmentos polipéptidos. São designadas de BONTOXILYSIN e desempenham diferentes funções. Cada um com 50 kDa – dois da cadeia pesada: o Hcn, responsável pelo ancoramento da toxina à membrana, o Hcc e um outro de 50 kDa da cadeia leve (Lc), responsável pela toxicidade, ligadas por ligações dissulfeto (Aoki, 2001) (Wortzman e Pickett, 2009).

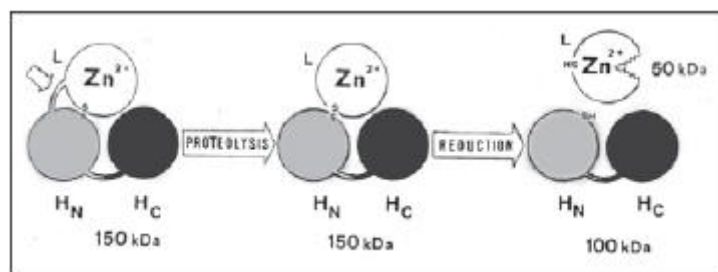


**Figura 5** - Estrutura da toxina botulínica (adaptada de <http://www.tecmundo.com.br/mega-curioso/25349-5-proteinas-mortais-do-nosso-dia-a-dia.htm>)

Cada molécula de neurotoxina contém um átomo de zinco (Figura 6), com exceção da toxina botulínica C que contém dois átomos de zinco. Esta proporção de

moléculas com zinco (potencialmente ativas) e sem zinco (inativas) na cadeia L depende, nomeadamente, da temperatura e do tempo de incubação (Mello, 2004).

Algumas partes da molécula são altamente conservadas ao passo que outras são mais variáveis e este facto deve-se à existência de fagos e plasmídeos. Na maior parte das vezes uma bactéria tem apenas um gene tóxico mas pode albergar mais que um tipo (Rossetto e Montecucco, 2003). O complexo da toxina é relativamente estável, especialmente a pH ácido (3,5 – 6,5), mas dissocia-se sob condições alcalinas e a sua atividade biológica fica comprometida. A toxina dissocia-se no intestino a valores de pH neutro e a parte tóxica é absorvida pelo intestino ligando-se a recetores de membranas pré-sinápticas de neurónios motores do sistema nervoso periférico e nervos cranianos, bloqueando a libertação da acetilcolina e levando à paralisia muscular. No entanto, não atravessa a barreira hematoencefálica. Estudos recentes mostram que a taxa de paralisia provocada pela toxina na junção neuromuscular representa 80% da atividade biológica original. Desconhece-se ainda o porquê de só 80% de atividade existir (Wortzman e Pickett, 2009) (Rossetto e Montecucco, 2003).



**Figura 6** - Estrutura da Toxina Botulínica e a sua atividade ao nível da membrana (adaptada de Mello, 2004)

### Modo de ação

No processo normal de libertação da acetilcolina, as vesículas no interior da célula contendo acetilcolina, num processo cálcio-dependente, fundem-se com a membrana da célula neural pré-sináptica e libertam o seu conteúdo para o espaço sináptico através de exocitose. A acetilcolina liga-se a recetores das células musculares iniciando assim a contração do músculo. O processo de ligação das vesículas de acetilcolina e a sua fusão

à membrana é facilitado por um complexo de proteínas – as SNARE, que inclui a SNAP-25, uma proteína sinaptossomal com peso molecular de 25kDa, uma proteína de membrana associada às vesículas, a VAMP, e a syntaxin (Wortzman e Pickett, 2009).

O efeito mais importante da toxina é na junção neuromuscular, mas esta também influencia a função autónoma, bloqueando células ganglionares simpáticas a parassimpáticas e neurónios colinérgicos simpáticos e pós-ganglionares parassimpáticos (Rossetto e Montecucco, 2003). A BoNT induz o bloqueio reversível na junção neuromuscular impedindo a fusão das vesículas com acetilcolina com a membrana pré sináptica, através da clivagem das SNARE (Wortzman e Pickett, 2009). A BoNT não interfere nem com a produção, nem com o armazenamento da acetilcolina e não afeta nem a propagação do impulso nervoso, nem a homeostasia do cálcio, ou seja, reduz a frequência, mas não a amplitude dos MEPPs (potenciais excitatórios pós-sinápticos), diminuindo o número de vesículas que contém acetilcolina mas não a quantidade desta em cada vesícula. Os MEPPs espontâneos são portanto menos frequentes mas não abolidos, enquanto que os MEPPs grandes mantêm-se frequentes (Rossetto e Montecucco, 2003) (Wortzman e Pickett, 2009).

O mecanismo de ação da toxina (Figura 7) envolve quatro passos:

a) Ligação de elevada afinidade

A cadeia pesada da toxina é a responsável pela ligação altamente seletiva e irreversível com recetores específicos - recetores de proteínas de superfície, gangliosídeos GD1 ou GT1b e recetores, os SV2 para a BoNT/A, BoNT/E e BoNT/F e as Syt I e II para a BoNT/B e BoNT/G (Montal, 2010) (Wortzman e Pickett, 2009).

b) Captação

Após ligação, a toxina por endocitose entra para um endossoma que se desloca pelo citoplasma. Ainda não há concordância nem certezas mas a teoria mais provável é que a vesícula que libertou a acetilcolina seja usada para carregar a toxina ligada ao recetor para dentro da célula (Wortzman e Pickett, 2009) (Montal, 2010).

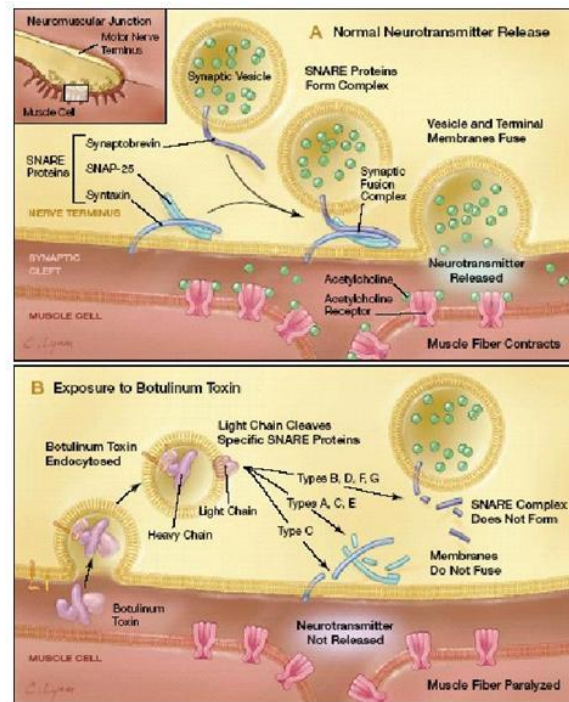
c) Translocação

No endossoma uma endopeptidase dependente do zinco, sensível ao pH e que altera a sua configuração mediante a acidificação da vesícula (causada por uma bomba de prótons aquando no citoplasma), origina uma alteração na configuração do endossoma permitindo que a Hcn se insira na membrana deste e, através da formação de um canal liberta a Lc para o citoplasma (Montal, 2010) (Rossetto e Montecucco, 2003).

A toxicidade da toxina botulínica resulta da atividade catalítica inerente apenas à cadeia leve, e da ligação dissulfídica destacando-se esta como causadora da toxicidade e responsável pela penetração na célula, sendo que, se a ligação dissulfídica for quebrada antes da internalização da toxina na célula em questão, a cadeia L não vai ser capaz de conseguir penetrar a membrana sináptica do terminal do axónio, havendo uma perda total de toxicidade (Boldt, Kennedy e Janda, 2006) (Mello, 2004).

d) Proteólise intracelular

Já no citoplasma a cadeia leve cliva uma das SNARE consoante o serótipo de toxina (o tipo B, D, F e G clivam as VAMP, os tipos A, C e E clivam as SNAP-25 e o tipo C a syntaxin), interferindo assim com a fusão das vesículas de acetilcolina e impedindo assim a sua libertação (Dover e Kaminer, 2009).



**Figura 7** - Mecanismo de ação da toxina botulinica (adaptada de

<http://3.bp.blogspot.com/RQuz7wtK9Yc/T2MxbuMGoII/AAAAAAAAABYw/7dJYZrEojoM/s1600/toxina+fernando+bezerra.bmp>)

A propagação do potencial de ação, a despolarização do nervo terminal e os canais de Na, K e Ca não são afetados pela toxina (Mello, 2004). Os diferentes serótipos de BoNT reconhecem as estruturas terciárias das SNARE. Estas compartilham entre si um local na cadeia que é chamado “tema principal”. Este aparece duas vezes na VAMP, quatro vezes na SNAP-25 e duas vezes na syntaxin e é inibido pela atividade da neurotoxina independentemente da sua origem ou tipo. Porém estas não são capazes de induzir a clivagem, e em consequência o efeito tóxico, de um alvo que não seja o seu específico (Mello, 2004).

A toxina é muito específica em termos tanto da ação junto à proteína alvo na parede da membrana sináptica, como da quebra da ponte peptídica levando à clivagem da molécula. Esta especificidade depende do reconhecimento do sítio de clivagem de um lado e do “tema principal” adicional, comum aos 3 alvos proteicos - VAMP, SNAP-25 e syntaxin, de outro (Mello, 2004).



## **Tempo de ação da toxina botulínica**

O tempo de recuperação após paralisia varia consoante os diferentes tipos de nervos e de serótipos de toxina. Normalmente demora cerca de 2 a 4 meses nas junções neuromusculares, mas muito mais tempo no sistema autónomo. A toxina tipo A foi a primeira a ser usada e é a que tem um tempo de recuperação mais longo, enquanto as restantes são mais efetivas na paralisia mas os seus efeitos passam mais depressa. Não se sabe ainda o porquê, mas pensa-se que estará relacionado com as proteínas SNARE (Carrilho, 2007) (Rossetto e Montecucco, 2003).

A ligação bioquímica inerente pode também ter a duração do seu efeito condicionado por diversos factores, estando entre eles:

1. o tempo de vida da cadeia Lc dentro do citoplasma da célula;
2. o turn-over (velocidade de síntese para repor a proteína degradada) das SNARE (VAMP, SNAP-25 e syntaxin);
3. eventos bioquímicos secundários, ligados à produção das SNARE (Aoki, 2001).

### **1. O Botox®**

Muitos estudos relacionam a toxina botulínica com o Botox®. No entanto, o Botox® – a onabotulinum toxina A, é uma das marcas comerciais desta toxina. Foi a primeira toxina biológica a ser aprovada para o tratamento de doenças humanas (Byers, 2010). Para a sua produção as culturas de *Clostridium botulinum* são fermentadas sofrendo autólise e libertando assim a toxina, sendo esta centrifugada e acidificada. A toxina resultante é solubilizada e purificada através de diferentes processos de precipitação e re-dissolução (Hambleton, 1992) (Lowe, 1998). A quantidade de toxina é diluída num soro de albumina e soro fisiológico, sofrendo depois liofilização. O tamanho do Botox® é de 900 kDa que contém 100 unidades de atividade biológica (U) de toxina, sendo que cada unidade representa a quantidade necessária para matar 50% de fêmeas de ratos suíços após injeção intra-peritoneal. Nos Estados Unidos o Botox® e o Dysport® (Figura 8) são as únicas marcas aprovadas pela FDA para uso cosmético. O Dysport® (Figura 8) (500 U) é também uma marca de toxina tipo A – a abobotulinum

toxina A atualmente vendida em mais de 60 países como os Europeus, Nova Zelândia, México, Brasil, Argentina e Vietname. Existem outras marcas como Xeomin® (Figura 8) - a incobotulinum toxina A (Alemanha) e a Prosigne® (China) e Purtox® (ainda em fase de estudos) que contém também toxina tipo A. No caso da toxina tipo B, apenas existe o Myobloc® (5000 U) (comercializado na Europa como Neurobloc®) para casos de distonia cervical e espasmo hemifacial, não tendo ainda autorização para ser usado na área da cosmética. Diferem na potência (o Botox® é 4 vezes mais potente que o Dysport®) ou equivalência de dose, início e duração de ação, perfil dos efeitos secundários, difusão no local e diferenças de imunogenicidade (Bonaparte et alli, 2013) (Loewe, 1998).



**Figura 8 - Botox®, Dysport ® e Xeomin®** (adaptada de <http://www.hawaiiibotox.com/botox-honolulu/>)

## **V. Aspectos clínicos**

### **1. Tipos de pacientes**

Qualquer paciente com atividade muscular exagerada, persistente e focal, pode beneficiar das injeções com toxina botulínica independentemente da causa, assim como pacientes com distúrbios autônomos. No uso clínico usa-se a BoNT-A ou BoNT-B através de injeções intramusculares em músculos ou glândulas, sendo que a BoNT-B só se usa quando há falha de resposta com BoNT-A (Ney e Joseph, 2010) (Moore e Naumann, 2003).

Uma correta seleção dos músculos e uma aplicação exata, irá produzir os melhores resultados com a menor dose possível de BoNT, tornando o tratamento mais barato, mais eficaz, permitindo a injeção em mais músculos e reduzindo a formação de anticorpos. É claro que diferentes problemas implicam diferentes estratégias. A seleção dos músculos e doses varia consoante a doença (Moore e Naumann, 2003).

Pacientes com doença neuromuscular (ex: miastenia grave) e hipersensibilidade a algum dos componentes (ex: albumina) não são candidatos a tratamentos com a toxina, assim como pacientes que tomam medicação que pode potenciar os efeitos da BoNT tais como: aminoglicosídeos, penicilina, quininas e bloqueadores do canal de cálcio (Ting, 2004).

No caso da gravidez, não há dados suficientes para afirmar se se pode ou não utilizar-se a toxina, apesar de considerada um medicamento de categoria C (não apresenta relação entre a toxina e teratogenicidade no feto). Num estudo realizado com nove mulheres, no qual três sabiam que estavam grávidas e seis desconheciam esse fato, apenas uma teve um parto prematuro. A gravidez das outras foi tranquila, o parto aconteceu na altura prevista e os bebês nasceram todos saudáveis. Uma outra mulher que apanhou botulismo no quinto mês de gravidez ficou quase completamente paralisada, sendo que só se observaram movimentos fetais. Após dois meses de tratamento recuperou e o bebê não nasceu prematuro nem apresentava problemas de

saúde. No entanto, como não há estudos suficientes, desaconselha-se a utilização da toxina na gravidez e aquando a amamentação (Ting, 2003) (Moore e Naumann, 2003).

## **2. Previsão e avaliação da resposta**

Na teoria, a BoNT é mais potente nas junções neuromusculares atuando de forma mais incisiva nas fibras que tem mais contrações. Assim, se só uma parte do complexo muscular está envolvida em atividades involuntárias, será essa secção a ter maior probabilidade de ser afetada pela toxina (Hallet, Glocker e Deuschl, 1994).

Existe uma variação considerável na resposta à toxina em muitas desordens. Num estudo verificou-se que alguns pacientes precisaram de mais sete doses da toxina para obterem os mesmos efeitos que os outros (Kessler, Skutta e Benecke, 1999). Alguns pacientes não conseguem tolerar a dose ótima e noutros, a melhor dose depende de uma escolha correta do local no músculo ou da experiência do clínico. Esta variação é um fator que torna difícil estabelecer taxas de potência e efeitos secundários (Moore e Naumann, 2003). Sendo assim e apesar de existirem guidelines para doses, números e locais de injeção, será sempre difícil em alguns casos prever os resultados e avaliar respostas terapêuticas. Os pacientes são aconselhados a consultarem-se com o clínico duas semanas após as injeções para avaliação da resposta terapêutica, já que nesta altura se podem fazer reajustes de doses.

## **3. Falha de resposta**

Muitas vezes o tratamento com a BoNT não corre como esperado. Existem dois tipos de falha na resposta - a primária e a secundária. A falha primária é definida como uma falha biológica completa da toxina, sem atrofia muscular, fraqueza ou mudanças na eletromiografia (EMG) ou ainda efeitos autónomos, sendo muito rara. A falha secundária ocorre quando há uma não resposta completa ou parcial numa segunda aplicação, tendo havido resposta na primeira. Clinicamente, a falha secundária ocorre em pacientes com história de pelo menos duas aplicações bem sucedidas e efeitos secundários relacionados com a terapia ausentes (Moore e Naumann, 2003). Nomeiam-se várias causas para falhas nos resultados: erros na aplicação; erros de seleção de pacientes ou nos músculos; erros na preparação, armazenamento ou transporte; erros de avaliação por parte do doente; expectativas irreais; hipertrofia muscular (após aplicações

repetidas o músculo torna-se mais resistente ao tratamento); e finalmente, a formação de anticorpos que impedem a toxina de funcionar (Matarasso, 1998). Existem estratégias para prevenir a formação de anticorpos: reduzir a carga proteica por dose; tornar as proteínas menos imunogénicas; esperar o máximo de tempo possível entre as injeções; usar as doses mínimas eficazes possíveis; e se um paciente usa BoNT para várias desordens, aplicar todas as doses para todas as indicações numa única sessão e não expor o paciente a diferentes tipos de toxinas (Moore e Naumann, 2003) (Fulton, 1998).

#### **4. Efeitos secundários**

Alguns efeitos secundários são triviais, outros são tolerados o suficiente em nome dos benefícios que o tratamento traz, e outros são reconhecidos como sendo desagradáveis demais ou potencialmente perigosos para serem ignorados. No entanto, os pacientes toleram melhor os efeitos secundários se forem avisados de que os mesmos podem acontecer. Os efeitos secundários são os mesmos para crianças e adultos e para a BoNT-A e BoNT-B. É difícil especificar uma dose óptima de BoNT, já que a janela terapêutica e efeitos secundários variam dependendo do local da injeção e tipo de desordem (Moore e Naumann, 2003).

Os efeitos secundários são diversos:

- náuseas;
- cansaço;
- sintomas gripais;
- prurido, mesmo em locais distantes da zona de aplicação (deve-se à difusão de pequenas quantidades de toxina na circulação sistémica);
- dor, eritema e edema (podem ser evitados usando anestésicos tópicos 45 minutos antes e gelo após a aplicação);
- parestesias;

- equimoses (evitadas se nos 7-10 dias antes não se consumir aspirina ou produtos contendo aspirina);
- sensação de queimação;
- disfagia (é o efeito secundário mais grave que pode ocorrer após injeções na laringe, pescoço ou na zona oromandibular e ocorre cerca de 90% dos casos de tratamento de distonia cervical);
- excessiva fraqueza no pescoço;
- reacções alérgicas, sendo no entanto raras as reacções anafiláticas;
- efeitos secundários sistémicos, os quais são raros mas podem ocorrer: cansaço generalizado sem fraqueza específica em algum local; disfunção na vesícula biliar levando ao aparecimento de colecistectomia; ílio paralisado; hipotensão; dilatação gástrica (Benettie Matayoshin e Castelo, 2008) (Crown et ali, 2010) (Varandas, 2007) (Ramos, 2007) (Matarasso, 1998).

O pico de reacção para os efeitos secundários oscila normalmente entre as 2 e 4 semanas após injeção, mas desaparecem muito antes de os efeitos terapêuticos desaparecerem. No entanto, a mesma dose no mesmo local pode produzir efeitos secundários variáveis (Moore e Naumann, 2003). Um estudo refere que a probabilidade de ter efeitos secundários sistémicos ocorre sobretudo em pacientes que fazem ciclos de tratamento de três em três meses com doses de toxina de 600U, independentemente da idade e massa corporal. São no entanto, mais frequentes nas crianças do que nos adultos nas mesmas condições (Crown et ali, 2010).

No caso de ciclos repetidos de injeções, a toxina produz mudanças cumulativas nas junções neuromusculares, no entanto, o número de brotamentos axonais também aumenta com o número de injeções. Através destes brotamentos nervosos, o tónus muscular é parcialmente restaurado. Com o tempo há o restabelecimento das proteínas de fusão e a evolução dos brotamentos de modo a que ocorre a recuperação da junção neuromuscular (Mello, 2004). Um estudo efectuado durante 13 meses com 549 pacientes sugeriu que o perfil de segurança relativo aos intervalos de aplicação da BoNT-A era o mesmo do que para aplicações repetidas de BoNT-A com doses variáveis baseadas na massa muscular e para aplicações com dose fixa de BoNT-A de 50 U ou

menos. Não se verificaram mais efeitos secundários nem situações referentes à segurança por acumulação da BoNT-A (Cohen et alli, 2009).



## VI. Usos clínicos

### 1. Distonias

O termo distonia foi introduzido pela primeira vez em 1911 e trata-se de um síndrome neurológico caracterizado por contrações musculares involuntárias que podem ser espásmicas, tónicas, irregulares ou repetidas (Figura 9). A atividade muscular frequente causa posturas anormais, incluindo torção, flexão, extensão, adução ou abdução e pode envolver qualquer músculo voluntário. Os movimentos podem observar-se em repouso ou serem desencadeados pela postura, por movimentos voluntários, ou por determinadas tarefas e tendem a aumentar com stresse e ansiedade (Carrilho, 2007) (Rosas e Sá, 2007).

Quanto à distribuição, a distonia pode ser focal, segmentada ou generalizada, sendo que a focal envolve um pequeno grupo de músculos, a segmentada envolve um grupo contínuo de músculos e a generalizada engloba o envolvimento dos membros inferiores com mais outra área (Rosas e Sá, 2007) (Brin, 2003).



**Figura 9** - Tipos de distonias (adaptada de <http://online-fisioterapia.blogspot.pt/2009/09/distonia.html>)

O trauma é a causa mais aceite de desenvolvimento de distonia, apesar de em 20% dos casos os pacientes apresentarem história familiar e portanto uma predisposição genética para o desenvolvimento dos sintomas (Jankovic, 2001).

## Terapia

Todos os fármacos usados promovem apenas um alívio nos sintomas e incluem: baclofeno, benzodiazepinas, anti-colinérgicos, anti-epilépticos, beta-bloqueadores e anti-dopaminérgicos. No entanto, a terapêutica revela-se muitas vezes ineficaz e mal tolerada pelos efeitos adversos como confusão, sonolência e desequilíbrio (Rosas e Sá). A toxina botulínica apresenta-se como uma opção nas distonias e como tratamento de primeira linha nas distonias focais. O sucesso da terapêutica depende da dose a usar, do correcto conhecimento dos músculos a injetar, da competência e experiência do médico, sendo que em muitos casos, o recurso à eletromiografia pode ser bastante útil (Ney e Joseph, 2007) (Carrilho, 2007).

### a) O Blefaroespasm

É uma distonia caracterizada pelo forçado, involuntário e inapropriado fecho do olho (Figura 10). Normalmente afeta os dois olhos simetricamente, mas às vezes revela-se assimétrico. Aparece normalmente entre a quinta e a sétima década de vida e é mais comum nas mulheres. Inicialmente, as contrações são intermitentes e normalmente os sintomas estabilizam ao fim de dois a três anos, mas com flutuações a nível de intensidade (Brin, Danisi e Blitzler, 2003) (Ney e Joseph, 2007). A toxina botulínica-A usa-se em casos onde a terapia conventual falha (benzodiazepinas, anti-colinérgicos e óculos de sol) e tem uma taxa de sucesso de 90%. O principal músculo a ser injetado é o orbicular. A aplicação faz-se de três em três meses, é bem tolerada e não provoca efeitos secundários definitivos. Os efeitos secundários são raros e caracterizam-se por ptose palpebral, olho seco, diplopia e diminuem com a frequência das aplicações (Ney e Joseph, 2007) (Castaneda e Jankovic 2013).



**Figura 10-** Blefaroespasmo (adaptada de <http://neuroinformacao.blogspot.pt/2012/02/pequeno-dicionario-de-termos-medicos.html>)

b) Distonia oromandibular e síndrome de Meige

A distonia oromandibular caracteriza-se por espasmos nos músculos no território inferior da face, como lábios, boca, língua e mandíbulas. Dificuldade em abrir e ou fechar a boca, mastigar, deglutir alimentos a articular as palavras são os sintomas mais frequentes. A causa pode ser idiopática ou estar associada a outras patologias. Quando o blefaroespasmo se associa com a distonia oromandibular, distonia cervical ou da laringe dá-se o nome de distonia cranial segmentada, mais conhecida como síndrome de Meige (Rosas e Sá, 2007) (Brin, Danisi e Blitzer, 2003) (Ferrin et alli, 2010). A distonia oromandibular não responde sempre positivamente às terapias orais tais como anti-colinérgicos, benzodiazepinas e anti-espasmódicos apesar de serem o tratamento de primeira linha (Carrilho, 2007). Vários estudos demonstram que a terapia com a BoNT-A provoca uma melhoria significativa no alívio dos sintomas, sendo que o efeito médio de duração de ação é de 16 semanas. Os músculos a injetar são cuidadosamente estudados e variam entre pacientes, podendo recorrer-se à eletromiografia no caso da síndrome de Meige (Ney e Joseph, 2007). Quer para a distonia oromandibular, quer para a síndrome de Meige, os pacientes devem ser avaliados por um neurologista, otorrinolaringologista e terapeuta da fala. Para a síndrome de Meige, a BoNT-A revela-se como a primeira linha de tratamento.

Os efeitos adversos são sobretudo enfraquecimento facial, pelo que muitos pacientes preferem receber injeções bilaterais para equilibrar a face (Brin, Danisi e Blitzer, 2003).

c) Distonia cervical e distonia axial

Define-se como uma postura involuntária e errada da posição da cabeça em relação à posição central (Zoons et alli, 2012). Podem ocorrer espasmos, tremores ou uma combinação dos dois e, é em 70% dos casos acompanhada por dor, que afeta o pescoço, ombros e provoca parestesias (Benecke et alli, 2003). É a forma mais comum de distonia focal e a causa mais comum para tratamento com BoNT na área de neurologia (Wolfgang et alli, 2013) (Ney e Joseph, 2007). A BoNT-A é o tratamento de escolha desde 1980 e apresenta uma melhoria significativa dos sintomas na maior parte dos pacientes, sendo que se usa a BoNT-B quando os pacientes não respondem à BoNT-A. A medicação oral representa a segunda linha de tratamento e inclui anti-colinérgicos e antagonistas da dopamina. Os pacientes apresentam idades entre 30-60 anos e reportam um agravamento dos sintomas nos cinco primeiros anos, após os quais tendência a estabilizar (Benecke et alli, 2013). A melhoria dos sintomas ocorre entre a primeira e terceira semana, sendo que o pico é após 16 dias das injeções e a duração do efeito é cerca de 11-14 semanas. A maioria dos pacientes repete as injeções de três em três meses (Ney e Joseph, 2007) (Castaneda e Jankovic 2013). Os efeitos adversos variam muito e dependem da dose, dos músculos injetados e do clínico e são: disfagia, fraqueza no pescoço, boca seca e dor no local da injeção (Wolfgang et alli, 2013) (Carrilho, 2007).

d) Distonia dos membros e distonia ocupacional

A distonia focal de um dos membros (Figura 11), normalmente do pé ou tornozelo é uma das complicações da doença de Parkinson e tal como as outras distonias, pode ocorrer durante o descanso ou aquando movimentos voluntários (Sheean, 2003). Outra distonia focal é aquela que ocorre apenas ao executar uma determinada tarefa como por exemplo, escrever ou tocar um instrumento. A distonia ocupacional foi primeiramente descrita na primeira metade do séc. 19 e caracteriza-se numa intensa contração dos dedos e pulso, torcendo-os para uma posição anormal (Karp, 2012) (Aránguiz et alli,

2010). Apenas 5% dos pacientes admitem a existência de trauma antes do aparecimento dos sintomas, sendo que a maior parte reclama o seu aparecimento durante um período de escrita ou prática intensa (Sheean, 2003) (Carrilho, 2007). A chance de remissão da doença é quase nula. Acontece no caso de músicos profissionais, sobretudo pianistas, clarinetistas e guitarristas e em pessoas cuja profissão implica muitas horas de escrita diária (Aránguiz et alli, 2010).



**Figura 11** - Dystonia dos membros (adaptada de <http://www.tecmundo.com.br/mega-curioso/25349-5-proteinas-mortais-do-nosso-dia-a-dia.htm>)

O tratamento comum para estas dystonias inclui anti-colinérgicos e benzodiazepinas, mas apresentam um índice de resposta positiva muito diminuta (20%). Apesar de não ser terapia de primeira escolha, a realidade é que todos os estudos feitos demonstram uma melhoria significativa nos sintomas após a administração da BoNT-A (Karp, 2012). O intervalo de tratamento é de 3 meses, apesar de alguns pacientes aguentarem até aos seis meses (Sheean, 2003). Os principais efeitos secundários são raros e incluem fraqueza muscular excessiva no músculo injetado e fraqueza nos músculos adjacentes, devido à difusão da toxina (Ney e Joseph, 2007) (Zoons et alli, 2012).

#### e) Dystonia da laringe/ disfonia espasmódica

A BoNT-A foi usada pela primeira vez na laringe em 1984 para tratar a dystonia focal na laringe (Sulica, Verdheyden e Blitzer, 2003) A dystonia na laringe, também

chamada de disfonia espasmódica, afeta o discurso e em alguns casos, provoca distonia da respiração. Acontece a partir dos 30 anos e é mais comum nas mulheres (Coelho et alli, 2010). Oito em cada dez pacientes de distonia da laringe apresenta difonia adutora produzindo falhas e quebras no discurso devido ao fecho involuntário da laringe, enquanto dois apresentam disfonia abductora devido à abertura involuntária das cordas vocais, causando pausas na respiração e libertação de ar durante o discurso (Rosas e Sá, 2007) (Ludlow, 2011). A toxina botulínica-A é a primeira linha de tratamento, podendo recorrer-se também à terapia da fala como complemento (Coelho et alli, 2010). Segundo a Academia Americana de Otorrinolaringologia, o discurso em pacientes com disfonia espasmódica melhora em 52% após primeira injeção e até 90% no decorrer do tratamento com uma duração média de 15 semanas. No caso dos pacientes com disfonia abductora os resultados são mais modestos, cerca de 46 até 86% de melhoria e uma duração de efeito de 10,4 semanas apenas (Sulica, Verheeyden e Blitzler, 2003). Os efeitos adversos são sobretudo: enfraquecimento do músculo e no caso da disfonia abductora, a dispneia pode ocorrer e como é potencialmente perigosa, a alternativa é diminuir a dose e assim encurtar a duração de efeito (Rosas e Sá, 2007).

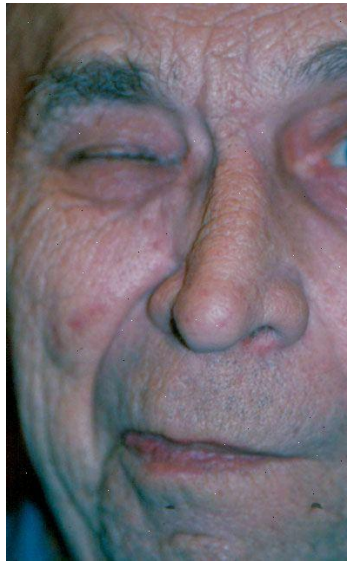
## **2. Tremores**

Representam um normal ou anormal funcionamento do sistema nervoso. Pode ter muitas patologias associadas e muitos dos mecanismos que os desencadeiam são ainda desconhecidos caracterizando-se por uma oscilação rítmica de uma parte do corpo (Senanayake e Findley, 2003). É classificado segundo a situação em que ocorre, a frequência da oscilação, a distribuição corporal e se está associado a alguma patologia (Abboud, Ahmed e Fernandez, 2011). Deve-se sempre considerar antes do diagnóstico o tipo de medicação que o paciente pode estar a fazer, já que o tremor pode ser um efeito da mesma (Rajput e Rajput, 2014). Segundo The International Tremor Investigation Group, o tremor pode ser classificado como: isométrico, específico de uma tarefa, intencional, cinético, postural, tremor essencial e tremor de descanso (Senanayake e Findley, 2003).

O tratamento do tremor depende sempre do diagnóstico. Há pacientes que não precisam de tratamento, noutros a terapia oral é a mais recomendada (anti-convulsionantes, benzodiazepinas, beta-adrenérgicos, álcool) (Senanayake e Findley, 2003) (Abboud, Ahmed e Fernandez, 2011). Em alguns casos, a BoNT-A reduz a amplitude do tremor. No caso do tremor da cabeça, cerca de 75% dos pacientes apresentam melhorias significativas após injeções com BoNT-A, sendo que os efeitos têm início após a primeira semana e duram até três meses. A BoNT-A também se usa no tremor cinético, postural e da mão (Senanayake e Findley, 2003). No caso de doentes com Parkinson, os estudos com BoNT-A são ainda poucos, mas num estudo com sete pacientes, três deles mostraram uma redução do tremor em cerca de 50% (Trosch, 1992). Num outro estudo, apenas 17% de doentes com Parkinson tiveram melhorias de 50%, enquanto cinco apresentaram melhoria em 38% (Senanayake e Findley, 2003). Os efeitos secundários em caso de injeções no pescoço incluem disfonia, boca seca, disfagia, fraqueza e dor no local da injeção. Em outros locais do corpo os efeitos são apenas dor no local da injeção e fraqueza muscular (Abboud, Ahmed e Fernandez, 2011) (Rajput e Rajput, 2014).

### **3. Espasmo hemifacial**

O espasmo hemifacial é induzido perifericamente. Não é considerado uma distonia (Brin, Danisi e Blitzer, 2003). É um contorcer involuntário tónico ou clónico dos músculos inervados pelo nervo facial (Figura 12) e é normalmente unilateral e muito raramente bilateral (Rosenstenge et alli, 2012). Normalmente começa no músculo orbicular e espalha-se para os outros músculos (Carrilho, 2007). O fecho involuntário do olho e elevação ou retração da boca são os movimentos mais comuns e podem ocorrer até durante o sono. A causa mais comum é a compressão vascular do nervo por uma artéria ou veia anormais. Outras causas incluem tumores, malformações vasculares e processos infecciosos (Machado et alli, 2003) (Brin, Danisi e Blitzer, 2003).



**Figura 12** - Espasmo hemifacial (adaptada de <http://pdg.estiga.com/espasmo-hemifacial>)

O tratamento oral tem pouco efeito no espasmo hemifacial, no entanto a carbamazepina e ácido valpróico são por vezes úteis para diminuir sintomas (Ney e Joseph, 2007) (Rosenstengel, 2012). A BoNT-A prova ser efectiva e é hoje, o tratamento de eleição na maior parte dos casos, sendo que o clínico tem que levar em consideração a dose, a técnica da injeção, o número de injeções por músculo e os músculos a injetar. A eletromiografia revela-se bastante útil no espasmo hemifacial. Os resultados são visíveis entre o primeiro e décimo dia após a aplicação atingindo o pico de ação às três semanas. A duração de efeito é de 3-4 meses (Ney e Joseph, 2007) (Brin, Danisi e Blitzer, 2003). Os efeitos secundários são comuns no início da terapia e enquanto se ajustam as doses e incluem: olho seco, ptose, edema ocular, fraqueza no músculo elevador da pálpebra, diplopia e visão turva (Carrilho, 2007) (Machado et alli, 2003).



#### 4. Espasticidade

A hiperatividade muscular, o enfraquecimento motor e o encurtamento muscular são as três características comuns apresentadas por pacientes com espasticidade (Gracies et alli, 2003). A espasticidade é um distúrbio motor, caracterizado por um aumento dependente da velocidade no reflexo de estiramento tônico com reflexos exagerados, resultantes da hiper-excitabilidade do reflexo de estiramento como um componente da síndrome do motoneurônio superior. Este, refere-se a toda a lesão no sistema nervoso central que ocorre devido a: acidente vascular cerebral, traumatismo crânio-encefálico, esclerose múltipla e lesão medular (Ney e Joseph, 2007) (Nalysnyk et alli, 2013). Está associada a hipertonia muscular, resistência aumentada ao estiramento e ao movimento errôneo do membro (Figura 13) (Gracies et alli, 2007).



**Figura 13** - Paciente com espasticidade (adaptada de <http://institutososmaocrianca.org.br/wordpress/?p=1587>)

O tratamento para a espasticidade engloba: cirurgia; fisioterapia; ortóses; BoNT-A e medicação oral como: baclofeno, tizanidina, benzodiazepinas, clonidina e gabapentina. No entanto, a medicação oral têm efeitos secundários que ocorrem com elevada frequência e que se tornam muitas vezes intoleráveis (Rekand e Hagen e Gronning, 2012) (Ney e Joseph, 2007) (Delgado et alli, 2010).

A BoNT-A foi usada pela primeira vez em 1989 por Das e Park no tratamento da espasticidade relacionada com enfarte de miocárdio, no qual observaram melhorias singificativas em seis dos seus pacientes (Gracies et alli, 2003). Desde essa altura a terapia com BoNT-A para a espasticidade, foi estipulada como sendo um pilar importante no tratamento destes pacientes e é considerada atualmente como sendo segura e eficaz (Placzek, Siebold e Funk, 2010).

O primeiro objectivo no tratamento da espasticidade, é manter o comprimento e o normal posicionamento dos membros, de forma a prevenir alterações nos tecidos. A BoNT-A permite facilitar este processo ao relaxar os músculos alvos, permitindo que eles consigam alongar. O efeito mais óbvio é a fraqueza muscular que provoca no músculo, diminuindo assim a força da contração espástica (Gracies et alli, 2003) (Simon e Yelnik, 2010). Um efeito mais subtil mostra que a atividade aferente do fuso muscular em outros locais é diminuída (mesmo antes de ser detetada qualquer fraqueza muscular no musculo injetado), e isto deve-se à difusão da toxina para locais distantes do ponto de aplicação (Gracies et alli, 2003).

Assim a BoNT diminui a contração espástica, reduz a distonia espástica e permite o alongamento de músculos encurtados, sendo considerada como um tratamento de primeira linha nos casos de espasticidade focal (Rekand, Hagen e Gronning, 2012) (Simon e Yelnik, 2010). O efeito terapêutico acontece passados 3 a 7 dias e o efeito máximo é atingido passadas duas semanas, diminuindo gradualmente após as doze semanas da aplicação da injeção. Deve tentar espaçar-se as aplicações de pelo menos três meses para não se correr o risco de formação de anticorpos (Rekand, Hagen e Gronning, 2012).

No caso da espasticidade generalizada, os pacientes podem precisar de várias injeções em diferentes grupos de músculos, durante várias sessões e separadas por poucas semanas. Deve levar-se em consideração se os benefícios ultrapassam o risco da formação de anticorpos. A BoNT continua a fazer efeito mesmo após múltiplas doses quando não há a formação de anticorpos (Simon e Yelnik, 2010).

a) Espasticidade infantil

A BoNT-A foi usada pela primeira vez no tratamento da espasticidade em crianças com paralisia cerebral em 1993, por um cirurgião ortopedista americano chamado A.L.Koman (Placzek, Siebold e Funk, 2010). Neste tipo de pacientes o tratamento deve começar a partir do primeiro ano de vida. Já no caso de espasticidade decorrente de trauma, este deve começar mal apareçam os primeiros sintomas (Berweck, Graham e Heinen, 2003).

A BoNT-A tem provado melhorar a postura, os espasmos, e pode reduzir a necessidade de outros tratamentos (Ney e Joseph, 2007). Os efeitos secundários são toleráveis e transitórios, sendo no entanto difícil extrapolar resultados, visto que, dependem das doses, indicações e técnica de injeção (Berweck, Graham e Heinen, 2003). Visão dupla, disfagia, fraqueza geral, cansaço e incontinência urinária são os efeitos adversos mais comuns. Deve evitar-se novas aplicações da BoNT-A em menos de 12 semanas, porque por um lado diminui a probabilidade da formação de anticorpos, e por outro não permite concluir com certeza sobre a dose-resposta exata, o que é essencial para a sua aplicação nas crianças (Delgado et alli, 2010) (Rekand, Hagen e Gronning, 2012).

Além da BoNT-A o tratamento para a espasticidade infantil pode incluir órteses, fisioterapia, e medicação oral ou rectal, dependendo da idade e cirurgia (Delgado et alli, 2010).

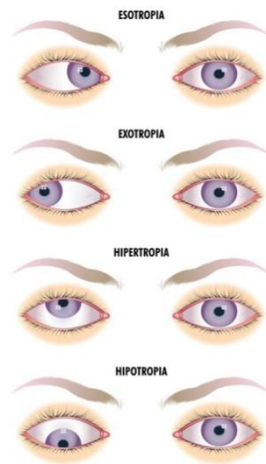
## **5. Oftalmologia**

a) Estrabismo

Em 1973, Alan Scott, um oftalmologista americano publicou um artigo onde referiu que a toxina botulínica-A tinha resultados satisfatórios no tratamento do estrabismo sem efeitos secundários graves em primatas (Scott et alli, 1973). No entanto foi apenas em 1979 que publicou os resultados de um estudo envolvendo 19 dos seus pacientes que sofriam desta condição e que haviam recebido no total 67 injeções. Referia técnicas de

tratamento, doses, indicações e resultados (Scott, 1981) (Scott, 1979) (Towler e Lightman, 1996).

O estrabismo é uma doença relativamente comum e 95% dos casos são do tipo concomitante, ou seja, não estão associados a paralisia muscular ou restrição no mecanismo de rotação ocular (Figura 14). Mas o estrabismo pode também ser provocado por causas neurológicas (Lee, 2003).



**Figura 14** - Tipos de estrabismo (adaptada de <http://www.cemahospital.com.br/estrabismo/>)

Dependendo da severidade, os sintomas do estrabismo podem ser: diplopia, astenia ocular, e dificuldades focais relacionadas com os eixos visuais. As terapias comuns incluem óculos, prismas para controlar a diplopia e cirurgia corretiva (Hopker et alli, 2012). A BoNT-A não endireita os olhos de um modo permanente, mas pode ser usada quantas vezes forem necessárias, sem cicatrizes ou outras complicações significativas. Além disso com o passar dos anos, denota-se um aumento da duração do efeito e um aumento no intervalo entre injeções (Horgan, Lee e Bunce, 1998) (Lee, 2003).

Estima-se que a taxa de sucesso no tratamento de estrabismo é de cerca 99%, sendo que a principal razão para a falha do tratamento é a falha na técnica da injeção (Lee, 2003).

b) Oscilopsia e nistagmo

Pacientes com nistagmo congénito normalmente têm uma visão muito pobre devido a razões sensoriais e motoras. O nistagmo é uma doença rara e caracteriza-se por oscilações rítmicas, repetidas e involuntárias de um ou ambos os olhos conjugadamente, nos sentidos horizontal, vertical ou rotatório. A administração de BoNT-A promove uma diminuição da amplitude do nistagmo e uma melhoria na acuidade visual. Normalmente, estes pacientes apresentam oscilopsia severa (sensação que os objectos estão em movimentos aquando se muda a posição da cabeça), que é extremamente desagradável. Usualmente a oscilopsia severa acontece mais em pacientes com esclerose múltipla e nestes casos pode-se administrar BoNT-A nos músculos extra-oculares e aliviar os sintomas (Dutton e Fowler, 2007) (Towler e Lightman, 1996).

c) Indução da ptose

A ptose (Figura 15) é um dos principais efeitos secundários da aplicação da BoNT-A no tratamento do estrabismo mas, é também uma forma de combater problemas do epitélio corneal nomeadamente em casos onde há necessidade de proteger a córnea, sem recorrer a cirurgia (Dutton e Fowler, 2007) (Kaynak-Hekimhan, 2010).



**Figura 15** - Ptose (adaptada de <http://www.saudeocular.com.br/ptose-palpebral/>)

d) Apraxia da pálpebra

É a incapacidade de realizar movimentos complexos aprendidos na ausência de paralisia, perda de sensibilidade ou de perturbação da coordenação. Nesta condição a BoNT-A parece ajudar na abertura palpebral (Kaynak-Hekimhan, 2010) (Scott, 1981).

Outras indicações oftálmicas menos comuns: retração da pálpebra; neuropatia compressiva óptica; entrópio espástico (Dutton e Flower, 2007).

Efeitos secundários

Os efeitos secundários da BoNT-A são os mesmos para as diversas indicações terapêuticas. Os mais comuns são a diplopia, desorientação, ptose (a qual é sempre transitória), hipertrofia muscular, e muito raramente pode ocorrer perfuração do globo e hemorragia retrobulbar (Dutton e Flower, 2007).

## **6. Desordens secretórias**

a) Hiperhidrose e sudorese

A hiperhidrose é a transpiração excessiva e pode ser focal ou generalizada. A focal normalmente afecta a cara, palmas das mãos ou sola dos pés (Figura 16) (Perera e Sinclair, 2013). É classificado como hiperhidrose quando há a produção de mais de 100 mg de suor numa axila após cinco minutos (Kinkelin, Naumann e Hamm, 2002). É causada por hiperatividade das glândulas sudoríparas. Pode ser primária e a sua causa é desconhecida, ou secundária, estando associada a doenças como obesidade, menopausa, desordens endócrinas, e outras (Lakraj, Moghimi e Jabbari, 2103) (Odderson, 1998).

Dos pacientes afectados, 60% apresentam hiperhidrose nas palmas das mãos e pés e 40% nas axilas. As consequências da hiperhidrose incluem desidratação e maceração da pele, as quais podem conduzir a infeções (Ney e Joseph, 2007).



**Figura 16 - Hiperhidrose** (adaptada de <http://www.dicasdesaude.info/dicas/causas-da-transpiracao-excessiva>)

## Tratamento

A BoNT-A consegue também bloquear os terminais nervosos colinérgicos simpáticos nas glândulas apócrinas e endócrinas (Ney e Joseph, 2007). Existem muitos tratamentos para a hiperhidrose mas nenhum é 100% satisfatório. Medicação anticolinérgica é efetiva, mas tem efeitos secundários desagradáveis tais como boca seca e visão dupla (Odderson, 1998) (Lakraj, Moghimi e Jabbari, 2103). A cirurgia, excisão e sucção das glândulas sudoríparas produzem cicatrizes extensas e não podem ser usadas nas mãos nem pés. Outra opção é bloquear as glândulas através da destruição do segundo e do terceiro gânglio torácico, corrigindo assim a hiperhidrose (Naumann, 2003). Mas também esta tem complicações severas (Naumann, 2013) (Ney e Joseph, 2007). A iontoforese e os sais de alumínio apresentam bons resultados no entanto os sais de alumínio duram pouco tempo normalmente uma média de dois dias (Lakraj, Moghimi e Jabbari, 2103).

A BoNT-A apresenta-se como uma opção eficaz, segura e minimamente invasiva para a hiperhidrose (Odderson, 1998) (Perera e Sinclair, 2013). Em vários estudos, ficou claramente documentada o benefício da BoNT-A na redução da secreção do suor e melhoria da qualidade de vida (Naumann, 2001) (Heckmann, Baumann e

Plewig, 2001). Também num outro estudo com a duração de 12 meses sobre hiperhidrose axilar, 207 dos pacientes com hiperhidrose axilar receberam até três injeções de BoNT-A. A taxa de resposta e a satisfação foram altas, sem diminuição do efeito após tratamentos repetidos. A duração média dos efeitos foi de sete meses, sendo que 28% dos pacientes não precisaram de mais de uma injeção, revelando benefícios em mais de 16 meses (Naumann, Hamm e Lowe, 2001). Num outro estudo sobre hiperhidrose axilar, o efeito da BoNT-A persistiu durante 9 a 11 meses (Odderson, 1998).

#### Efeitos secundários

Incluem pequenos hematomas e fraqueza transitória dos pequenos músculos das mãos, no caso de hiperhidrose palmar, onde as injeções se revelam bastantes dolorosas, sendo comum o recurso a anestésicos locais (Ney e Joseph, 2007) (Odderson, 1998).

##### b) Sialorreia

A sialorreia é a produção excessiva de saliva e é um sintoma comum de doenças degenerativas como por exemplo a doença de Parkinson (Ney e Joseph, 2007).

Normalmente o tratamento passa pela toma de anti-colinérgicos que reduzem a secreção salivar. No entanto, os seus efeitos adversos diminuem muito o seu uso (Naumann, 2003). Num estudo feito a doentes com Parkinson, dois terços destes apresentaram melhorias após o tratamento com BoNT-A nas glândulas parótidas ou nas glândulas sub-mandibulares (Bhatia e Munchau e Brown, 1999) (Pal et alli, 2000) (Ney e Joseph, 2007).

##### c) Outras indicações:

Síndrome lágrimas de crocodilo; rinorreia; síndrome de Ross; síndrome de Frey e hiperhidrose craniofacial (Naumann, 2003).



### Teste de Minor (Figura 17)

Para o clínico saber a extensão da área com hiperhidrose realiza-se o teste de Minor. Pinta-se a área a tratar com solução de iodo (álcool com 2g de iodo com 10ml de óleo de castor até perfazer 100ml), deixa-se secar e depois aplica-se pó de talco. O suor vai originar uma mistura que vai alterar de vermelho para azul-escuro a área que necessita de ser tratada (Naumann, 2003).



**Figura 17** - Teste de Minor na hiperhidrose axilar (adaptada de

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S198351752011000400008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S198351752011000400008&script=sci_arttext))

## 7. Dor

Num dos primeiros grandes estudos que se fizeram sobre o efeito da BoNT-A no alívio da distonia cervical, Jankovic e Schwartz referiram um total alívio da dor em 76% dos seus pacientes (Jankovic e Schwartz, 1990). Outros estudos com BoNT-A sobre torcicolos descreveram também melhoria na dor em 12 de 19 pacientes ou mesmo a sua total remissão em 66% dos pacientes (Blackie e Lees, 1990) (Anderson et alli, 1992). No entanto, como a dor não era o foco nestes estudos, não se podia provar o uso da BoNT-A como indicação para esta condição. O primeiro estudo para testar a BoNT-A na dor foi feito por Pacchetti et al em 1995, onde estudou a dor na distonia. Dez dias após a injeção, a dor diminuiu em todos os pacientes, tendo o efeito durado entre 3 a 7

meses (Nurmikko, 2003). Outros estudos têm demonstrado a diminuição da dor principalmente a músculo-esquelética (Ney e Joseph, 2007).

a) Enxaqueca

A enxaqueca é caracterizada como um distúrbio neurovascular do recorrente, dor de cabeça latejante, e muitas vezes associada com aura, náuseas, vômitos, fotofobia, fonofobia, fadiga e maior irritabilidade (Shao et ali, 2013).

Em 1991 alguns pacientes que usavam BoNT-A para indicações cosméticas, chamaram a atenção dos clínicos, ao informar que as enxaquecas melhoravam após tratamento (Nurmikko, 2003) (Robertson e Garza, 2012). Foi então realizado um estudo com doze clínicas, envolvendo 123 pacientes que tinham em média cinco enxaquecas por mês. Depois de um mês das injeções todos os pacientes com exceção de um, reportaram apenas uma enxaqueca moderada ou severa. Ao fim de três meses, tinham tido duas enxaquecas, sendo que não só a frequência das enxaquecas havia diminuído mas também a severidade (Silberstein et ali, 2000). Num outro estudo, 38 dos 77 pacientes afirmaram uma total remissão das enxaquecas após 4 meses (Blinder et ali, 2000).

Em dois outros grandes estudos cujos resultados foram divulgados no congresso internacional de enxaqueca em Filadélfia em 2009, ficou comprovado que a BoNT-A tinha um benefício significativo no tratamento da enxaquecas de tal forma que indicaram à FDA que o seu uso deveria constar como tratamento da enxaqueca crônica (Rapoport, 2010.) Outros estudos seguiram-se após a aprovação pela FDA em 2010 para a BoNT-A como tratamento na enxaqueca, segundo Rami et al, num estudo feito, 37 em 82 pacientes cuja média de enxaqueca por mês era de cinco, a frequência das enxaquecas baixou 85%, enquanto a melhoria nos outros não foi tão significativa (Burstein, Dodick e Silberstein, 2009). Em outros estudos nos quais os pacientes apresentavam por mês mais de 15 enxaquecas, a eficácia da BoNT-A também ficou comprovada reduzindo o número e a severidade de enxaquecas de forma bastante significativa (Diener et ali, 2011) (Shao 2013).

Outros estudos surgiram de seguida mais centrados em perceber os mecanismos de ação da toxina do que nos seus efeitos já anteriormente provados (Chen, 2012)

(Nurmikko, 2001). Segundo Paul et alli, a toxina além de inibir a acetilcolina levando ao relaxamento do músculo, a sua internalização nos neurónios sensitivos que inervam os músculos e a pele, leva à inibição da libertação de mediadores anti-inflamatórios como o CGRP (proteína relacionada com o gene da calcitonina) e a substância P. Esta teoria tem sido defendida em outros estudos, mas não havendo ainda certezas absolutas de que funciona desta forma (Druham e Cady, 2011) (Shao, 2013) (Ferreira et alli, 2012) (Ney e Joseph, 2007).

#### b) Fissura anal

Uma fissura anal é um corte ou divisão no revestimento epitelial do canal anal distal à linha dentada. A fissura anal é denominada crónica, quando não cicatriza dentro de 6-8 semanas e é acompanhada de dor que aumenta durante a defecação (Schubert et alli, 2009). Na maior parte dos casos, a fissura anal é idiopática, ou seja, sem nenhuma doença relacionada. Mas algumas podem desenvolver-se após trauma, hemorróides, colite ulcerosa, doença Chron, HIV ou sífilis (Nurmikko, 2003).

Existem várias opções de tratamento para fissura anal: cirurgia, antagonistas do cálcio, trinitrato de glicerilo, diltiazem e a administração da BoNT-A, sendo que estudos mais recentes defendem a cirurgia como tratamento mais seguro quando comparado com a BoNT-A, apesar de demonstrada a sua segurança e eficácia (Aires et alli, 2009) (Altomare et alli, 2011) (Schubert, 2009).

#### c) Outras indicações para a BoNT-A:

Segundo Ranoux et alli, a BoNT-A revela resultados positivos no alívio da dor neuropática. Outros autores defendem a mesma posição, no entanto, existe ainda muita controvérsia sobre este assunto, já que existem estudos que apresentam resultados muito distintos para o tratamento da dor neuropática com BoNT-A (Climent et alli, 2013) (Verma, 2015) (Gobelet et alli, 2006).

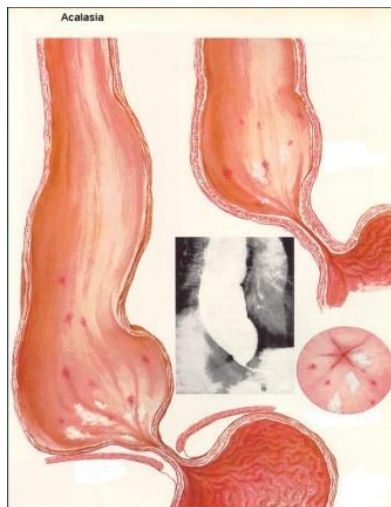
Outras indicações como nevralgia pós-herpética, síndrome do túnel cárpico, fascite plantar, dor lombar, dor do tenista, dor nas articulações, ainda apresentam poucos estudos apesar de estarem referenciados resultados positivos na diminuição da dor

(Singh, 2013) (Emad, Emad e Taheri, 2011) (Chen, 2012) (Kharkar et alli, 2011) (Ferreira et alli, 2006).

## 8. Gastrointestinal

### a) Acalásia

A acalásia é uma indicação comum para a BoNT-A em gastroenterologia. Ocorre sobretudo entre os 20 e 40 anos, mas pode aparecer em qualquer idade e é caracterizada por um inadequado relaxamento do esfíncter esofágico inferior (Figura 18), provocando disfagia, dor retroesternal, regurgitação e perda de peso (Chuah, 2010) (Mikaeli, Islami e Malekzadeh, 2009) (Patti, 2012).



**Figura 18** - Acalásia (adaptado de [http://medicina.ufm.edu/index.php/S%C3%ADndrome\\_de\\_Allgrove](http://medicina.ufm.edu/index.php/S%C3%ADndrome_de_Allgrove))

### Tratamento

A medicação anti-espasmódica é muito usada. Bloqueadores do canal do cálcio e nitratos têm resultados satisfatórios mas pouco duradouros (Mikaeli, Islami, Malekzadeh, 2009) (Katada, 2012). Dois estudos recentes mostram que a BoNT-A é uma alternativa à cirurgia e que apresenta uma remissão nos sintomas durante 7-9 meses

com respostas imediatas excelentes (taxas de sucesso superiores a 90%) (Chuah, 2012) (Mikaeli, Islami, Malekzadeh, 2009). Um outro estudo, no entanto reportou o alívio dos sintomas em 78,3 % dos pacientes um mês depois do procedimento, mas este foi diminuindo nos meses seguintes (Katada, 2012). A cirurgia continua, no entanto, a ser o tratamento preferencial para esta condição (Roman e Kahrilas, 2013).

#### b) Espasmo esofágico difuso

É uma condição onde o esófago se apresenta hiperativo devido a contrações anormais de propagação ou devido a um vigor exagerado. Normalmente provoca dor e disfagia e regurgitação (Roman e Kahrilas, 2013).

### Tratamento

Normalmente a medicação anti-espasmódica é a mais comum, como bloqueadores do canal do cálcio ou nitratos. Mais recentemente, o sildenafil provou ser eficaz nesta condição. A cirurgia tem bons resultados nos casos mais severos, mas a BoNT-A mostra-se como uma alternativa menos invasiva e estudos recentes sugerem que além de reduzir a dor torácica, é mais efetiva que a medicação oral. No entanto, também aqui a cirurgia revela-se como preferencial pelos clínicos em relação às outras opções de tratamento (Roman e Kahrilas, 2013).

## 9. Urologia

#### a) Dissinergia do detrusor-esfincter (DVE)

A lesão que origina dissinergia do esfíncter-detrusor, encontra-se na medula e deve-se sobretudo a traumatismo na medula espinal ou a esclerose múltipla. Afeta os nervos que controlam o músculo esquelético e o músculo liso do sistema urinário, que traz como consequência uma falta de coordenação entre a bexiga e o esfíncter externo. O esfíncter externo permanece contraído, o que leva a uma obstrução da saída do trato

urinário quando a bexiga tenta expelir a urina. A dissinergia produz uma pressão excessiva na bexiga e a impossibilidade de esvaziá-la completamente. O aumento da pressão pode causar danos ao detrusor, dano renal ou refluxo uretral (Jost, 2003). Phelan et alli demonstraram uma melhoria considerável na micção após injeções com a BoNT-A na uretra (Phelan et alli, 2001). Também as injeções transperianais mostraram um aumento da capacidade funcional do detrusor e uma diminuição da pressão do detrusor durante a micção (Hanchanale et alli, 2010). Cruz e Silva concluíram que as injeções com BoNT-A melhoram o esvaziamento da bexiga em pacientes com problemas de micção além da melhoria na DVE (Cruz e Silva, 2004).

Os efeitos da BoNT-A normalmente aparecem dentro de 24h. A paralisia máxima ocorre normalmente após uma semana e os benefícios duram entre 2 até 6 meses. Os efeitos secundários são raros, no entanto hematomas, sangramento uretral e infecções locais podem ocorrer devido à passagem da agulha. A incontinência urinária transitória pode ocorrer num terço dos tratamentos (Jost, 2003). Existe a possibilidade de ocorrer retenção urinária numa frequência muito variável (0-50%) podendo estar relacionada com injeção no esfíncter estriado. A utilização repetida pode induzir a formação de anticorpos neutralizantes em 5% dos doentes (Lourenço et alli, 2006).

#### b) Bexiga hiperactiva

É um conjunto de sintomas que consistem em urgência e frequência urinária, notúria e incontinência. É quase sempre acompanhada a hiperatividade do detrusor (Jayarajam e Radomski, 2013). Pode ser idiopática ou secundária a uma causa neurológica - disfunção neurogénica da bexiga (NBD). Esta pode desenvolver-se como resultado de uma lesão a qualquer nível do sistema nervoso e pode levar a: hiperatividade do esfíncter, causando obstrução funcional combinada com a inatividade do detrusor ou uma bexiga que não gera contração, onde o resultado é a bexiga não esvaziar completamente; desnervação do esfíncter com nenhuma resistência ao fluxo de urina combinada com a inatividade do detrusor; denervação do esfíncter combinado com hiperatividade do detrusor (Larijani et alli, 2013).

A BoNT-A tem sido considerada como uma opção eficaz em pacientes onde os tratamentos convencionais (como anti-muscarínicos, anti-colinérgicos, antidepressivos,

desmopressina e cateterismo) se apresentam insatisfatórios (Jayarajan e Radomski, 2013) (Campbell et alli, 2009). Vários estudos têm mostrado que a BoNT-A reduz a hiperatividade do músculo detrusor, revelando uma melhoria significativa da função do trato urinário inferior em relação à redução da incontinência urinária, redução da pressão do detrusor, aumento da capacidade da bexiga e melhoria da qualidade de vida. (Knuepfer e Juenemann, 2014) (Hanchanale et alli, 2010) (Dyer e Franco, 2009)

O efeito terapêutico dura entre 3 a 9 meses e as reações adversas ocorrem cerca das doze semanas de tratamento e podem incluir disúria, bactéria e retenção urinária (Jayarajan e Radomski, 2013) (Campbell et alli, 2009).

#### c) Outras aplicações

A BoNT-A tem vindo a ser estudada também no tratamento do uretroespaço, vaginismo, hiperplasia benigna da próstata, síndrome da bexiga dolorosa e cistite intersticial apresentando resultados promissores. No entanto os estudos nestas patologias são ainda limitados (Jost, 2003) (Dyer e Franco, 2009) (Hanchanale et alli, 2010).

### **10. Cosmética**

A BoNT-A tornou-se num dos tratamentos cosméticos mais populares na última década e tem sido usada em todo o mundo para tratar linhas hiperfuncionais, incluindo linhas glabellares, horizontais na testa, pés de galinha, linhas nasais, assimetria facial e linhas mesolabiais (Matarasso, 2009).

No caso da cosmética, deve-se sempre considerar as expectativas dos pacientes e se estas são realistas. O médico deve examinar a idade da pele, a elasticidade e a textura, a presença ou ausência de dano e de doenças de pele. É contraindicada a administração na gravidez e lactação, infeção ou trauma recente, hipersensibilidade a algum componente e desordens neuromusculares (Sommer e Lowe, 2003).

a) Linhas glabellares e da testa

As linhas horizontais da testa e glabellares são dos melhores candidatos para a BoNT-A. No caso das linhas glabellares o número de injeções recomendada é de cinco (Figura 19), no entanto, podem ser adicionados mais dois pontos bilaterais. As mulheres normalmente requerem uma menor dose de toxina que os homens (Carruthers et alli, 2004). Após as injeções é recomendável que os pacientes se mantenham na posição vertical durante 4 horas para evitar a migração da toxina e evitar a manipulação do local da injeção. Os efeitos surgem após as primeiras 48 horas (Figura 20) (Hankins e Strimling e Rogers, 1998). Os pacientes devem ser revistos passadas duas semanas e a duração dos resultados é de 3-4 meses. No caso de rugas horizontais da testa o número de injeções varia com o paciente e os seus objectivos. Neste caso os resultados mantêm-se até aos 6 meses (Carruthers et alli, 2004). Os indivíduos tratados na zona gabelar são os que se queixam mais de resultados insatisfatórios, por isso o ajuste de dose após um mês de tratamento ou o recurso à eletromiografia podem ser de grande utilidade (Carruthers e Carruthers, 1998).



**Figura 19** - Pontos de aplicação da BoNT-A na zona glabellar, linhas da testa e pés-de-galinha (adaptada de <http://marcellodimartino.blogspot.pt/2013/05/toxina-botulinica-botox-percebo-muito.html>)

Os efeitos secundários são raros, mas dores de cabeça, dor no local da injeção, edema e ptose podem ocorrer, sendo que, a incidência de episódios de ptose e de dores



de cabeça tendem a diminuir após cada ciclo de tratamento (Winter e Spiegel, 2010) (Cohen et alli, 2009).

Um estudo publicado no qual os pacientes tratados com Botox® nas linhas glabellares tinham que preencher um questionário sobre a forma como se sentiam após os resultados do tratamento, mostrou que o Botox® não é apenas um tratamento de cosmética, mas funciona também como um potenciador de marketing pessoal, já que os indivíduos tratados apresentavam depois mais confiança emocional e funcional no seu trabalho e vida pessoal (Fried, Werscheler e Floirendo, 2009).



**Figura 20** - Antes e depois da aplicação da BoNT-A nas linhas glabellares e da testa (adaptado de <http://moda.vocedeolhoemtudo.com.br/curiosidades/toxina-botulinica/>)

#### b) Pescoço

A BoNT-A tem sido usada na zona inferior da face e no pescoço como alternativa à cirurgia. É um procedimento seguro e minimamente invasivo cujo resultado é obtido logo após o primeiro tratamento (Figura 21). A toxina é injetada no platisma e no depressor do lábio, o que permite um levantamento da area perioral. As injeções podem ser repetidas ao fim de 4-6 meses (Hoefflin, 1998) (Brandt e Bellman, 1998).



**Figura 21** - a) Locais da injeção com BoNT-A; b) Antes e depois da aplicação da BoNT-A no platisma.

(adaptado de

<https://www.google.pt/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&docid=N3OtUdV->

#### c) Pés-de-galinha

As rugas orbitais laterais comumente conhecidas como pés-de-galinha são o resultado da atividade muscular com o fotoenvelhecimento (Cavallini et alli, 2014). O objetivo será por isso atenuar as rugas e promover uma aparência relaxada e não causar imobilização. Os pacientes devem ser revistos duas semanas após a injeção se houver necessidade de reajustamento. A duração do efeito é menor do que nas outras áreas da face, normalmente 3 meses apenas. Após a segunda injeção os resultados são visíveis por meses (Carruthers et alli, 2004) (Carruthers e Carruthers, 1998). A BoNT-A demonstra resultados terapêuticos satisfatórios quer para clínicos, quer para pacientes (Figura 22) (Raspaldo et alli, 2011)



**Figura 22** - Locais de aplicação do Botox® nas rugas laterais orbitais (antes e depois) (adaptado de <http://www.carterabbottmedspa.com/botox>)

Na tabela 1 estão descritas o número de injeções e as doses atualmente recomendadas de Botox® para os diversos locais de aplicação na face e pescoço.

**Tabela 1** - guidelines para número de injeções e doses (Carruthers et ali, 2004)

Local e músculo alvo	Número comum de injeções	Dose total inicial (comum)
Complexo glabellar: Corrugador, orbicular do olho depressor do supercílio, prócero.	5 a 7, os homens podem necessitar de mais	Mulheres: 20 a 30 U Homens: 30 a 40 U
Rugas horizontais da testa: Frontal (considerando as interações com os outros músculos).	4 a 8, mais ou menos podem ser necessárias dependendo da avaliação prévia da pele	Mulheres: 12 a 30 U Homens: 20 a 30 U
Pés-de-galinha: Porção lateral do orbicular do olho	2 a 5	12 a 30 U
‘Bunny lines’: Prócero Parte transversa do músculo nasal	1 no centro 1 por cada lado	1 U 2 a 4 U
Perioral: Músculo orbicular da boca	2 a 6 para começar em quatro locais distintos	4 a 10 U divididas entre os locais
Queixo pele de laranja: Mental	1 a 2 para começar, ou no centro ou bilaterais	Mulheres: 2 a 6 U Homens: 2 a 8 U
Pescoço: Platísmo	Mulheres: 2 a 12 Homens: 3 a 12	Mulheres: 10 a 30 U Homens: 10 a 40 U

## 11. Outras aplicações

### a) Tiques e Síndrome de Tourette

A síndrome de Tourette é uma desordem neuro-comportamental que é caracterizada por anormalidades comportamentais, tiques vocais e motores involuntários e recorrentes, défice de atenção, falta de controlo nos impulsos e comportamento obsessivo-compulsivo (Termine et alli, 2013). Apesar de não haver certezas, várias causas são apontadas para esta síndrome (Pauline, 2014) (Eddy et alli, 2011). Neurolépticos como risperidona, haloperidol, flufenazina e primozide são os mais comuns no tratamento, no entanto usam-se também citalopram, fluoxetina e clonidina. A medicação oral apesar de eficaz, apresenta muitos efeitos secundários como sedação, ganho de peso, e ainda uma variedade de desordens nos movimentos (Porta et alli, 2004) (Termine et alli, 2013). A terapia pode e deve ser considerada em casos mais graves (Robertson, 2012)

A BoNT-A tem sido confirmada por vários estudos como eficaz no tratamento clónico e distónico (Aguirregomez, 2007). Num primeiro estudo feito com 22 pacientes dos quais 13 tinham tiques vocais e 12 destes tinham também comportamento impulsivo para além dos tiques vocais, foram administradas uma média de duas injeções com intervalo de 4 meses. 98% dos pacientes mostraram uma melhoria significativa nos tiques ao fim de 5-8 dias mantendo-se assim durante uma média de 102 dias (Porta et alli, 2004). Em vários outros estudos, uma melhoria significativa dos tiques foi também referenciada após administração da BoNT-A. Apesar de não apresentarem efeitos secundários graves, 98% dos pacientes apresentaram hipofonia (Eddy et alli, 2011). Além da hipofonia, os efeitos secundários incluem ptose, dor e fraqueza muscular no pescoço (Thomas e Jankovic, 2003).

### b) Mioclonias

A mioclonia é um movimento repentino, abrupto, normalmente designada por convulsões ou contrações, que são encontradas num grande número de doenças do sistema nervoso central. Não está associada a perda de consciência e pode ser generalizada, focal ou segmental (Thomas e Jankovic, 2003) (Kojovic, Cordivari e Bhatia, 2011).

Como tratamento, medicação como barbitúricos ou anti-epilépticos são bastante usados, no entanto os mais efectivos são o clonazepam, o 5-hidroxitriptofano e o valproato de sódio e o piracetam (Kojovic, Cordivari e Bhatia, 2011). A BoNT-A tem sido bastante estudada e tem sido útil no tratamento do mioclono. No entanto, os casos reportados com mais sucesso são do mioclono palatal. Houve algumas séries de casos documentando a taxa de sucesso elevada e efeitos secundários mínimos da injeção da BoNT-A para tratamento de mioclonia palatal. O alívio dos sintomas ocorreu em média entre os 4-5 dias após as injeções (Anis e Pollak, 2013) (Tobías et alli, 2010).

c) Síndrome da pessoa rígida

É uma doença autoimune caracterizada por uma postura rígida causada por contrações isométricas dos músculos paraespinais e das pernas (Thomas e Jankovic, 2003). Pode ser de três tipos: síndrome do tronco rígido, síndrome do membro rígido e encefalomielite progressiva com rigidez (Ciccoto, Blaya e Kelley, 2013). Os sintomas aparecem entre os 30 e 70 anos. Normalmente há rigidez acentuada das costas, abdominal e dos músculos das extremidades, dor crónica, e marcha com espasmos que podem ser provocados por alterações emocionais. A rigidez provoca depois uma alteração na postura originando por vezes cifose, lordose, ou marcha rígida (Thomas e Jankovic, 2003) (Panzer e Dalmau, 2011) (Munhoz et alli 2012). Para esta situação, baclofeno, diazepam, valproato de sódio, clonidina, tizanidina, são fármacos bastante usados e que promovem um alívio dos sintomas, mas no entanto apresentam vários efeitos secundários (Munhoz et alli, 2012) (Thomas e Jankovic, 2013). O primeiro estudo que se fez com a BoNT-A no tratamento da síndrome da pessoa rígida foi em 1993 por Davis e Jabbari e o efeito durou quatro meses (Thomas e Jankovic, 2003). Um outro estudo mostrou uma melhoria significativa iniciada uma semana após as injeções, permanecendo esta por cerca de 4 meses (Szczepańska-Szerej, 2003). Também outros estudos descrevem os bons resultados no alívio dos sintomas das pessoas com este síndrome (Liguori et alli, 1997) (Requena et alli, 2005).

## VII. O futuro da toxina botulínica

Já Justinus Kerner nas suas monografias sobre o *Clostridium botulinum* acreditava que no futuro a toxina que causava a doença poderia ser utilizada para fins terapêuticos. Já o Dr. Alan Scott graças à sua ideia visionária, merece a maior parte dos créditos por todo o trabalho no uso clínico da BoNT-A. O início do conceito do uso clínico da BoNT-A, seguida de estudos em animais e humanos e a sua visão em relação às futuras implicações do seu trabalho, foram cruciais para o desenvolvimento desta nova forma de terapia, que tem sido de grande valor na vida de milhares de pessoas.

Ao longo desta revisão bibliográfica foram apresentadas diversas áreas clínicas nas quais a BoNT-A é utilizada devido aos bons resultados apresentados nas diversas patologias. No entanto, estudos continuam a ser feitos não apenas para comprovar os bons resultados nas indicações descritas, mas também para testar a BoNT-A em outras situações.

Uma das recentes aplicações para a BoNT-A foi descrita por Foley e colegas num artigo de revisão (Foley e Finlayson e Travlos, 2012), onde descreveram os resultados positivos do uso da toxina em pacientes que apresentavam síndrome do desfiladeiro torácico. Este síndrome consiste num grupo de diferentes sintomas (alguns dolorosos) devido à compressão do plexo braquial (nervos que passam do pescoço para o braço, e/ou a artéria subclávia e veia subclávia (vasos sanguíneos) que passam entre o tórax e a extremidade superior (<http://emedicine.medscape.com/article/96412-overview> Rosenbaum, D. (2013), consultado em 25-09-2104). O efeito anti-nociceptivo da BoNT-A surge através de um ou mais destes três mecanismos: bloqueio neuromuscular, causando relaxamento; inibição da dor através da modulação da libertação do gene relacionado com a calcitonina e substância P; e/ ou um efeito na microcirculação vascular. Os estudos recentes com a BoNT-A têm revelado bons resultados no alívio dos sintomas em pacientes com este síndrome (Foley, Finlayson e Travlos, 2012) (Qerama, Fuglsang-Frederiksene Jensen, 2010) (Ranoux, 2011).

Pickett e Perrow num artigo de revisão publicado em 2011 relataram os resultados de vários estudos nas quais a BoNT-A tem sido usada como vetor para outros fármacos,

quer através do uso do local da sua ligação de forma a direccionar o local de ligação de outros fármacos, quer através da alteração do local de ligação da BoNT-A para redireccionar outras moléculas no local pretendido.

A BoNT-A tem propriedades estruturais bem caracterizadas e únicas, adequadas para a engenharia para o uso terapêutico. Em alguns estudos alterou-se a ligação, a catálise, a duração de ação da toxina, de forma a obter um melhor efeito terapêutico. As SNARE que também estão envolvidas em processos de secreção, são um bom alvo de interesse, já que, a sua inativação pela BoNT-A tem sido estudada na diabetes, distúrbios respiratórios, processos inflamatórios e no cancro. A engenharia genética está a revelar os verdadeiros potenciais da BoNT-A (Pickett e Perrow, 2011).

Baseado em estudos anteriores que provam que os músculos envolvidos nas expressões faciais têm feedback na influência do humor, ou seja, as nossas expressões promovem um feedback específico-emocional no sistema nervoso central, Young em 2013 fez um estudo sobre os efeitos do BoNT-A na depressão, no qual os pacientes foram injetados com BoNT-A na zona glabellar. A paralisia dos músculos levou a que os pacientes quando se olhassem ao espelho gostassem mais da expressão que viam e como tal o feedback enviado ao cérebro era mais positivo. A toxina provou assim ter um efeito antidepressivo durante 16 semanas (Young, 2013).

Muitas novas competências para a BoNT-A estão a ser estudadas e muitas delas com resultados favoráveis e promissores. Outros estudos estão mais concentrados na optimização de doses, na modificação da toxina ou uso de outro subtipo de toxina para melhorar resultados terapêuticos (Mezaki, 2011). De qualquer forma, as características únicas da BoNT-A permitem a sua aplicação em variadas áreas terapêuticas, sendo que muitas das suas valias ainda estarão por descobrir.

## VIII. Conclusão

O botox é uma palavra que faz hoje já parte do nosso vocabulário, muito graças ao seu uso na cosmética. Foi através desta área que a maior parte da população tomou conhecimento do botox e da sua ação terapêutica. No entanto, seria difícil, senão impossível de dizer há 36 anos, que a toxina botulínica iria ser a terapia, muitas vezes de primeira linha em tantas condições. Desde que o Dr. Allan Scott, usou a toxina pela primeira vez no tratamento do estrabismo, outros ensaios clínicos se seguiram. A toxina é hoje usada em variadas áreas clínicas com resultados surpreendentes. A terapia é já bem conhecida e estudada, sendo que, a única desvantagem que apresenta é a necessidade de injeções repetidas de manutenção e os custos que estas representam para os hospitais, clínicas e utentes.

Talvez o mais importante no sucesso dos resultados da terapia com a toxina botulínica seja o planeamento individual do tratamento com o utente. Isto depende de uma série de fatores como um profundo conhecimento da anatomia e fisiologia dos músculos individuais e as suas interações, melhoramento da técnica de injeção, assim como das características do paciente, incluindo os objetivos e expectativas.

A terapia com a toxina promete no futuro novas aplicações terapêuticas com o objetivo de melhorar formulações já existentes e reduzir os seus efeitos secundários. Talvez a mudança das características físicas e químicas da toxina botulínica, possam permitir um maior ou menor efeito de ação, um prolongamento do intervalo das injeções de forma a reduzir efeitos adversos, mas também os custos.

A ciência continua a aumentar o seu conhecimento de como e quando usar a toxina botulínica. Mas esta também levanta questões complexas às quais os especialistas ainda não sabem responder. No entanto pensa-se que nas próximas décadas a toxina botulínica irá continuar a surpreender-nos com as suas capacidades únicas.



## IX. Bibliografia

Abboud, H., Ahmed, A., Fernandez, H. (2011). Essential tremor: Choosing the right management plan for your patient. *Cleveland and clinic journal of medicine*, 78(12), pp. 821-826.

Aguirregomozcorta, M. et alli. (2008). Efficacy of botulinum toxin in severe Tourette syndrome with dystonic tics involving the neck. *Parkinsonism and related disorders*. 14(5), pp. 443-445.

Aires, F. et alli. (2009) Toxina botulínica ou esfínterectomia lateral para o tratamento da fissura anal crônica? *Rev Assoc Med Bras*, 55 (4), pp. 363-81.

Allen, S. e Baron, E. (1999). *Clostridium*. In: Baron, E. et alli. *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. Washington, ASM Press, pp: 505-513.

Altomare, F. et alli. (2011). The management of patients with primary chronic anal fissure: a position paper. *Tech Coloproctol*, 15, pp. 135-141.

Anderson, T. et alli (1992). Botulinum toxin treatment of spasmodic torticollis. *J royal society medicine*, 85, pp. 524-529.

Anis, M. e Pollak, N. (2013). Treatment of Palatal Myoclonus with Botulinum Toxin Injection. *Hindawi Publishing Corporation: Case Reports in Otolaryngology*, 2013, pp.1-3.

Aoki, K. (2001). Pharmacology and immunology of botulinum toxin serotypes, *Journal Neurology*, 248(1), pp 3-10.

Aránguiz, R. et alli. (2011). Focal dystonia in musicians. *Neurología*, 26(1), pp.45-52.

Aureli, P. et alli. (2000). An outbreak in Italy of botulism associated with a dessert made with Mascarpone cream cheese. *European Journal of Epidemiology*, 16 (10), pp: 913-918.

Balsam, J. et alli. (2013). Low-cost technologies for medical diagnostics in low-resource settings. *Expert Opin Med Diagn.* 7(3) pp: 243-255.

Bathia, KP., Munchau, A., Brown, P. (1999). Botulinum toxin is a useful treatment in excessive drooling of saliva. *J neurol neurosurg psychiatry*, 67, pp. 697.

Benecke, R. et alli. (2003). Cervical and axial dystonia. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp.158-186.

Benetti, R., Matayoshi, S., Castelo, F (2008). Efeitos adversos associados à aplicação de toxina botulínica na face: revisão sistemática com meta-análise. *Arq Bras Oftalmol.*, 71(6), pp. 894 – 901.

Berweck, S., Graham, K., Heinen, F. (2003). Spasticity in children. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 272- 302.

Binder, W. et alli. (2000). Botulinum toxin type A (Botox) for treatment of migraine headaches: na open label study. *Otolaryngol- head neck surg* 2000. 123, pp. 660-676.

Blackie, JD. e Lees, AJ. (1990). Botulinum toxin treatment in spasmodic torticollis. *J neurol, neurosurgery psychiatry*. 53, pp. 640-643.

Boldt, E., Kennedy, J., Janda, K. (2006). Identification of a potent botulinum neurotoxin A protease inhibitor using *in situ* lead identification chemistry. *Departments of Chemistry and Immunology, The Skaggs Institute for Chemical Biology, and Worm*, 8 (8), pp. 1729-1732.

Bonaparte, J. et alli. (2013). A comparative assessment of three formulations of botulinum toxin A for facial rhytides: a systematic review and meta-analyses. *Systematic reviews*. 2 (40), pp. 1-7.

Brant, F. e Bellman, B. (1998). Cosmetic use of botulinum toxin A exotoxin for the aging neck. *American society for dermatologic surgery*, 24, pp. 1232-1234.

Brin, M. (2003). Fundamentals of dystonia. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp.101-110.

Brin, M., Danisi, F., Blitzler, A. (2003). Blepharospasm, oromandibular dystonia, Meige's syndrome and hemifacial spasm. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 119-138.

Buenaga, F. et alli. (2011). Treatment of the comitant acquired esotropia residual deviation. *Arch soc esp oftalmol*, 86 (7), pp.209 -212.

Burstein, R., Dodick, D., Silberstein, S. (2009). Migraine prophylaxis with Botulinum Toxin A is associated with perception of headache. *NIH Public Access Author Manuscript: Toxicon*, 54(5), pp. 624-627.

Byers, E. (2010). Botulin toxin: bad bug or miracle medicine. *The international student journal*, 2(11). Disponível em <<http://www.studentpulse.com/>> (consultado em 31/07/14).

Campbell, JD. et alli (2009). Treatment sucess for overactive bladder with urinary urge incontinence refractory to oral antimuscarinics: a review of publish evidence. *BMC Urol*, 20, pp. 9-18.

Cardoso, T. et alli. (2004). Botulismo alimentar: estudo retrospectivo de cinco casos. *Acta Médica Portuguesa*, 17, pp. 54-58.

Carrilho, I. (2007). Aplicações terapêuticas da toxina botulinica nas distonias, *Nascer e crescer, revista do hospital de crianças Maria pia*, 16(3), pp. 181-183.

Carruthers, A. e Carruthers, J. (1998). History of the cosmetic use of botulinum A exotoxin. *American society for dermatologic sugery*, 24(11), pp. 1168-1169.

Carruthers, A. e Carruthers, J. (1998). Clinical indications and injection technique for the cosmetic use of botulinum A exotoxin. *Dermatologic surgery*, 24(11), pp. 1189-1197.

Carruthers, J. et alli (2004). Consensus recommendations on the use of botulinum toxin type A in facial aesthetics. *Plastic and reconstructive surgery*, 114(6), pp.1S-19S.

Carruthers, A. e Carruthers, J. (2013). *Botulinum Toxin: Procedures in Cosmetic Dermatology Series*, (3ª). London, Saunders Elsevier, pp. 13-18.

Castaneda, J. e Jankovic, J. (2013). Long-term efficacy and safety of botulinum toxin injections i dystonia. *Toxins*, 5, pp. 249-266.

Caty, G. et alli. (2008). Effect of simultaneous botulinum toxin injections into several muscles on impairment, activity, participation, and quality of life among stroke patients presenting with a stiff knee gait. *Stroke*. 39, pp. 2803-2808.

Cavallini, M. et alli. (2014). Safety of botulinum toxin A in aesthetic treatments: a systematic review of clinical studies. *Dermatol Surg*, 40(5), pp. 525-536.

Cereser, N. et alli. (2008). Botulismo de origem alimentar. *Ciência Rural*, 38 (1), pp. 280-287.

Chalk, C. e Benstead, T. e Keezer, M. (2011). Medical treatment for botulism. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 16(3).

Cheng, O. (2012). Evidence based knee injections for the management of arthritis. *NIH Public Access Author Manuscript: Pain Med*, 13(6), pp. 740-753.

Chuah, S. (2010). Endoscope-guided pneumatic dilation for treatment of esophageal achalasia. *World J Gastroenterol*, 16(4), pp. 411-417.

Ciccoto, G., Blaya, M., Kelley, RE. (2013). Stiff person syndrome. *Neurol Clin.* 31(1), pp. 319-28.

Climent, J. (2013). Treatment of Morton Neuroma with Botulinum Toxin A: A Pilot Study. *Clin Drug Investig*, 33, pp. 497-503.

Coelho, M. (2010). Disfonia Espasmódica: Descrição da Doença e dos Distúrbios Neurológicos Associados. *Arq. Int. Otorrinolaringologia*, 14(2), pp. 163-166.

Cohen, J. et alli. (2009). An analysis of the long-term safety data of repeat administrations of botulinum neurotoxin type A-ABO for the glabellar lines. *Aesthetic surgery journal*, 29(6S), pp. S43-S49.

Crowner, B. et alli. (2010). Systemic Weakness After Therapeutic Injections of Botulinum Toxin A: A Case Series and Review of the Literature. *ClinNeuropharmacol*, 33(5), pp.243-247.

Cruz, F. e Silva, C. (2004). Botulinum toxin in the management of lower urinary tract dysfunction: contemporary update. *Curr Opin Urol*, 14, pp. 329-334.

Delgado, R. et alli. (2010). Practice parameter: pharmacologic treatment of spasticity in children and adolescents with cerebral palsy (an evidence-based review). *American academy of neurology*, 74, pp. 336-343.

Dhaked, R. et alli. (2010). Botulinum toxin: bioweapon and magic drug. *Indian J Med Res*, 132(5), pp. 489-503

Diener, HC. et alli. (2011). Chronic migraine-classification, characteristics and treatment. *Nat Rev Neurol*. 8(3), pp. 162-171.

Dover, J., Kaminer, M., Kenneth, A. (2009). Atlas of Cosmetic Surgery, *W.B. Sanders Company*, EUA, 17(1), pp. 291.

Durham, P. e Cady, R. (2011). Insights Into the Mechanism of OnabotulinumtoxinA in Chronic Migraine. *NIH Public Access Author Manuscript: headache*, 51(10), pp. 1573-1577.

Druschel, C. et alli. (2013). Off Label Use of Botulinum Toxin in Children under Two Years of Age: A Systematic Review. *Toxins*, 5, pp. 60-72.

Dutton, J. e Fowler, A. (2007). Botulinum Toxin in Ophthalmology. *Survey of ophthalmology*, 52(1), pp. 13-31.

Dworkin, R. et alli. (2010). Recommendations for the Pharmacological Management of Neuropathic Pain: An Overview and Literature Update. *Mayo Clin Proc*, 85(3), pp.S3-S14.

Dyer, L. e Franco, I. (2009). Botulinum toxin-A therapy in pediatric urology: indications for neurogenic and non-neurogenic bladder. *The scientific world journal*, 9, pp. 1300-1305.

Eddy, C., Rickards, H., Cavanna, A. (2011). Treatment strategies for tics in Tourette syndrome. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 4(1), pp. 25-45.

Eikmeyer, J. et alli. (2013). Detailed analysis of metagenome datasets obtained from biogas-producing microbial communities residing in biogas reactors does not indicate the presence of putative pathogenic microorganisms. *Biotechnology for Biofuels*. 6(49), pp. 1-14.

Emad, M., Emad, M., Taheri, P. (2011). The Efficacy of Intradermal Injection of Botulinum Toxin in Patients with Post-Herpetic Neuralgia. *Iran Red Crescent Med Journal*, 13(5), pp. 323-327.

Ferreira, J. et alli (2006). Toxina botulinica para o tratamento de síndromas dolorosas. *Órgão oficial da sociedade portuguesa de reumatologia – acta reum port*, 31, pp.49-62.

Ferrin, L. et alli. (2010). Oromandibular dystonia: a dental approach. *Med oral patol oral cir bucal*, 15(1), pp. 25-7.

Foley, J., Finlayson, H., Travlos, A. (2012). A Review of Thoracic Outlet Syndrome and the Possible Role of Botulinum Toxin in the Treatment of This Syndrome. *Toxins*, 4, pp: 1223-1235.

Frean, J. et alli. (2004). Fatal type A botulism in South Africa, 2002. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London*, 98, pp: 290-295.



Freeman, S. e Cohen, J. (2008). New toxins on the horizon. *Aesthetic surgery journal*, 28(3), pp. 325-329.

Fried, R., Wescheler, P., Floirendo, T. (2009). The Botulinum Toxin Experience Results of a Patient Self-Report Questionnaire. *Clinical aesthetic dermatology*, 2(11), pp. 37-40.

Fulton, J. (1998). Botulinum toxin, the Newport beach experience. *American society for dermatologic surgery, Inc*, 24, pp. 1219-1224.

Gelli, D.S. et alli. (2002). Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). *Revistado Instituto de Medicina Tropical*, 44 (6), pp: 321-324.

Gobel, H. et alli. (2006). Efficacy and safety of a single botulinum type A toxin complex treatment (Dysport) for the relief of upper back myofascial pain syndrome: results from a randomized double-blinded placebo-controlled multicentre study. *Pain*, 125(1-2), pp.82–88.

Gracies, J. et alli. (2003). Spasticity in adults. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 219- 257.

Hallet, M., Glocker, F., Deuschl, G. (1994). Mechanism of action of botulinum toxin. *Ann neurol*, 36, pp. 449-450.

Hambleton, P. (1992). *Clostridium botulinum* toxins: a general review of involvement in disease, structure, mode of action and preparation for clinical use. *Journal of neurology*, 239, pp. 16-20.

Hanchanale, V. et alli. (2010). The unusual history and the urological applications of botulinum neurotoxin. *Urology Int*, 85, pp. 125-130.

Hankins, C., Strimling, R., Rogers, G. (1998). Botulinum A toxins for glabellar wrinkles. *Dermatologic surgery*, 24 (11), pp.1181- 1183.

Heckmann, M., Baumann-Ceballos, A., Plewig, G. (2001) Botulinum toxin A for axillary hyperhidrosis (excessive sweating). *N engl j. med.* 344, pp. 488-493.

Hoefflin, S. (1998). Anatomy of the platysma and lip depressor muscles. *American society for dermatologic surgery*, 24, pp. 1225-1231.

Hopker, L. et alli. (2012). Bupivacaine and botulinum toxin to treat comitant strabismus, *Arq Bras Oftalmol*, 75 (2), pp. 111-5.

Horgan, S., Bunce, C., Lee, J. (1998). The long term use of botulinum toxin for adult strabismus. *Journal ped. Ophtalmol*, 35, pp. 9-16.

Houeto J. e Giré P. (2008). Tics and Tourette syndrome: diagnosis, course and treatment principles. *Presse Med.*, 37 (2), pp. 263-270.

Hund, M., e Kinkelin, I., Naumann, M. (2002). Definition of axillary hyperhidrosis by gravimetric assessment. *Arch. Dermatol*, 138, pp.539-541.

Jankovic, J. (2001). Can peripheral trauma induce dystonia and other movement disorders? Yes! *Mov. Disorders*, 16, pp. 7-12.

Jankovic, J. e Schwartz, K. (1990). Botulinum toxin injections for cervical dystonia. *Neurology*, 40, pp. 277-280.

Jayarajan, J. e Radomski, SB. (2013). Pharmacotherapy of overactive bladder in adults: a review of efficacy, tolerability, and quality of life. *Res rep urol*, 6 (6), pp. 1-16.

Jimenez, N. (2012). Tics and Tourette syndrome: An adult perspective. *Cleveland clinic journal of medicine*, 79(2), pp. S35-S39.

Jost, W. (2003). Pelvic floor and gastrointestinal uses. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 360-362.

Karp, B. (2012). Botulinum Toxin Physiology in Focal Hand and Cranial Dystonia. *Toxins*, 4, pp. 1404-1414.

Katada, N. et alli. (2012). Recent Trends in the Management of Achalasia. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 18, pp. 420-428.

Kaynak-Hekimhan, P. (2010). Noncosmetic Periocular Therapeutic Applications of Botulinum Toxin. *Middle East Afr J Ophthalmol*, 17 (2), pp. 113-120.

Kessler, K., Skutta, M., Benecke, R. (1999). Long-term treatment of cervical dystonia with botulinum toxin A. Efficacy, safety, and antibody frequency. *Journal Neurol*, 51, pp- 265-274.

Kharkar, S. et alli. (2011). Intramuscular Botulinum Toxin in Complex Regional Pain Syndrome: Case Series and Literature Review. *Pain Physician*, 14, pp.419-424.

Kojovic, M., Cordivari, C., Bhatia, K. (2012). Myoclonic disorders: a practical approach for diagnosis and treatment. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 4(1), pp. 47-62.

Knuepfer, S. e Juenemann, KP. (2014). Experience with botulinum toxin type A in the treatment of neurogenic detrusor overactivity in clinical practice. *Ther Adv Urol*, 6 (1), pp. 34-42.

Lakraj, D., Moghimi, N., Jabbari, B. (2013). Hyperhidrosis: Anatomy, Pathophysiology and Treatment with Emphasis on the Role of Botulinum Toxins. *Toxins*, 5, pp. 821-840.

Larijani, FJ. et alli. (2013). Preventing kidney injurie in childrem with neurogenic bladder dysfunction. *Int J Prev Med*, 4 (12), pp. 1359-1364.

Leclerc, V. et alli. (2002). Pathogens in meat end Milk products: surveil lance and impact on human health in France. *Livestock Production Science*, 76, pp. 195-202.

Lee, J. (2003). Ophthalmic indications. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2<sup>a</sup>). Oxford, Blackwell Science, pp.383-400.

Librando, A. et alli. (2013). Botulinum toxin treatment in glaucomatous patients: a pilot study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 17, pp. 1835-1838.

Liguori, R. et alli. (1997). Botulinum toxin A improves muscle spasms and rigidity in stiff-person syndrome. *Mov Disord*. 12(6), pp. 1060-1063.

Lillehoj, PB., Wei, F., Ho, CM. (2010). A self-pumping lab-on-a-chip for rapid detection of botulinum toxin. *Lab Chip*., 10 (17), pp: 2265-2270.

Lourenço, M. (2006). Neurotoxina botulínica: Aplicações na Urologia - Revisão baseada na evidência, *Acta Urológica*, 23(4) pp.13-18.

Lowe, N. (1998). Botulinum toxin type A for facial rejuvenation. *American society for dermatologic surgery*, 24(11), pp. 1216-1218.

Ludlow, C. (2011). Spasmodic Dysphonia: a Laryngeal Control Disorder Specific to Speech. *The Journal of Neuroscience*, 31(3), pp.793-797.

Machado, F. et alli (2003). Espasmo hemifacial bilateral. *Arq Neuropsiquiatr* 61(1), pp. 115-118.

Macía, I. (2010). Primary hyperhidrosis. Current status of surgical treatment. *Cirurgía Española*, 88(3), pp.146-151.

Matarasso, A. (2009). The continuing evolution of neurotoxins for nonsurgical facial rejuvenation: an introduction. *Aesthetic surgery journal*, 29 (6S), pp.S29-S30.

Matarasso, S. (1998). Complications of botulinum A exotoxin for hyperfunctional lines. *American society for dermatologic surgery, Inc*, 24, pp. 1249-1254.

Mello, M. (2004). Toxina botulínica tipo A - propriedades farmacológicas e uso clínico, *Acta Fisiátrica*, 1, pp. S10-S13.

Meltzer, RH.et alli. (2011). A lab-on-chip for biothreat detection using single-molecule ADN mapping. *Lab chip*.,11 (5), pp: 863-873.

Merino, P. (2011).Horizontal sensory strabismus: Characteristics and treatment results. *Arch soc esp oftalmol*, 86(11), pp.358-362.

Mezaki, T. (2011). Clinical application of botulinum toxin. *Brain nerve*, 63 (7), pp. 785-794.

Mikaeli, J., Islami, F., Malekzadeh, R. (2009). Achalasia: A review of Western and Iranian experiences. *World J Gastroenterol*, 15(40), pp. 5000-5009.

Minguini, N. et alli. (2012). Surgery with intraoperative botulinum toxin-A injection for the treatment of large-angle horizontal strabismus: a pilot study. *Clinics*, 67(3), pp. 279-282.

Montal, M. (2010). Botulinum neurotoxin: a marvel of protein design. *Annual review of biochemistry*, 79, pp. 591-617.

Moore, P. e Naumann, M. (2003). General and clinical aspects of treatment with botulinum toxin. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 29-66.

Munchau, A. e Bhatia, K. (2000). Uses of botulinum toxin injections on today's medicine, *BMJ*, 320 (7228), pp. 161-165.

Munhoz, R. (2012). Movement disorders emergencies: a review. *Arq Neuropsiquiatria* 70(6), pp. 453-461.

Naik, M. et alli. (2005). Botulinum toxin in ophthalmic plastic surgery, *Ophthalmology practice*, 53 (4), pp. 279-288.

Nalysnyk, L. et alli. (2013). OnabotulinumtoxinA muscle injection patterns in adult spasticity: a systematic literature review. *BMC Neurology*, 13(118).

Naumann, M. (2003). Hypersecretory diseases. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 343-356.

Naumann, M. e Lowe, N. (2001). Botulinum toxin type A in the treatment of bilateral primary axillary hyperhidrosis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Br. Medical journal*, 323, pp. 596-599.

Naumann, M., Lowe, N.J., Hamm, H. (2001). A multicenter, open label continuation study evaluating the safety and efficacy of botulinum toxin type A in the treatment of bilateral axillary hyperhidrosis, *JEADV*, 15(2), pp. 130.

Naumann, M. e Moore, P. (2003). History and current applications of botulinum toxin – from poison to remedy. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 3-5.

Ney, J. e Joseph, K. (2007). Neurologic uses of botulinum neurotoxin type A, *Neuropsychiatric disease and treatment*, 3(6), pp. 785-798.

Nurmikko, T. (2003). Management of pain with botulinum toxin. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 405-417.

Odderson, R. (1998). Hyperhidrosis treated by botulinum A exotoxin. *American Society for Dermatologic Surgery Inc.* 24, pp. 1237- 1241.

Pal, P.K. et al. (2000). Botulinum toxin A as treatment for drooling saliva in PD. *Neurology*, 54, pp. 244-247.

Panicker, J. e Muthane, U. (2003) Botulinum toxin: Pharmacology and its current therapeutic evidences for use. *Department of Neurology*, 51(4), pp. 455-46.



Panzer, J. e Dalmau, J. (2011). Movement disorders in paraneoplastic and autoimmune disease. *NIH Public Access Author Manuscript Curr Opin Neurol*, 24(4), pp. 346-353.

Patti, M. et alli. (2012). Impact of minimally invasive surgery on the treatment of benign esophageal disorders. *World J Gastroenterol*, 18(46), pp. 6764-6770.

Perera, E. e Sinclair, R. (2013). Hyperhidrosis and Bromhidrosis: A guide to assessment and management. *Australian Family Physician*, 42(5), pp. 266-269.

Phelan, MW. et alli. (2001). Botulinum toxin urethral sphincter injection to restore bladder emptying in men and women with voiding dysfunction. *J Urol*, 165, pp. 1107-1110.

Pickett, A. e Perrow, K. (2011). Towards New Uses of Botulinum Toxin as a Novel Therapeutic Tool. *Toxins*, 3, pp:63-81.

Placzek, R., Sieblod, D., Funk, J. (2010). Development of treatment concepts for use of botulinum toxin A in children with cerebral palsy. *Toxins*, 2, pp. 2258-2271.

Porta, M. et alli, (2004). Treatment of phonic tics in patients with Tourette's syndrome using botulinum toxin type A. *Neurological sciences*, 24(6), pp. 420-423.

Qerama, E., Fugslang-Frederiksen, A., Jensen, T.S. (2010). The role of botulinum toxin in management of pain: An evidence-based review. *Curr. Opin. Anaesthesiol.*, 23, pp: 602-610.

Rajput, A. e Rajput, A. (2014). Medical Treatment of Essential Tremor. *Journal of Central Nervous System Disease*, 2104(6), pp. 29-39.

Ramos, M. (2007). Toxina Botulínica: Aplicações Terapêuticas na Criança com Disfunções Miccionais. *Nascer e crescer, revista do hospital de crianças Maria Pia*, 16(3), pp. S184-S185.

Ranoux, D. (2011). Botulinum toxin and painfull peripheral neuropathies: what could be expected? *Rev. Neurol (paris)*, 176 (1), pp. 46-50.

Rapoport, A. (2010). New acute treatments for headache. *Neurol Sci*, 31(1), pp. S129-S132.

Raspaldo, H. et alli. (2011). Upper- and mid-face anti-aging treatment and prevention using onabotulinumtoxin A: the 2010 multidisciplinary French consensus--part 1. *J. Cosmet Dermatol*, 10(1), pp. 36-50.

Rekand, T., Hagen, EM., Gronning, M. (2012). Spasticity following spinal cord injury. *Tidsskr Nor Laegeforen.*, 132(8), pp. 970-973.

Requena, I. et alli. (1995). Syndromes of continuous muscular activity: report of a central case (stiff-man) and a peripheral case (neuromyotonia) associated with neuroborreliosis. *Rev Neurol*. 23(119), pp. 129-33.

Robertson, C. e Garza, I. (2012). Critical analysis of the use of onabotulinumtoxin A (botulinum toxin type A) in migraine. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 8, pp. 35-48.

Robertson, M. (2012). The Gilles de la Tourette syndrome: the current status. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*, 97(5), pp. 166-175.

Roman, S. e Kahrilas, P. (2013). Management of Spastic Disorders of the Esophagus. *NIH Public Access Author Manuscript: Gastroenterol Clin North Am*, 42 (1), pp. 27-43.

Rosenstenge, C. et alli. (2012). Hemifacial Spasm, Conservative and Surgical Treatment Options. *Dtsch Arztebl Int*, 109(41), pp.667-73.

Rossetto, O. e Montecucco, C. (2003). How botulinum toxins work. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp.11-17.

Saenz, J. e Sams II, R. (2011). Treatment of Hyperhidrosis. *American Family Physician*, 83(4), pp. 465-466.

Sánchez, AV. e Vázquez, X. (2013). Estrabismo y toxina botulínica. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 88, pp. 286-287.

Schubert, M. et alli. (2009). What every gastroenterologist needs to know about common anorectal disorders. *World J Gastroenterol*, 15(26), pp. 3201-3209.

Scott, A., Rosenbaum, A., Collins, C. (1973). Pharmacologic weakening of extraocular muscles. *Investigative Ophthalmology*, 12, pp. 924-927.

Scott, A. (1979). Botulinum toxin injection into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. *Ophthalmology*, 87, pp. 1044-1049.

Scott, A. (1981). Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus, *TR. AM. OPHT.*, LXXIX, pp.743-770.

Senanayake, B. e Findley, L. (2003). Tremor. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 307-320.

Shao, Y. et alli. (2013). Botulinum Toxin Type A Therapy in Migraine: Preclinical and Clinical Trials. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 15(10), pp.1-8.

Sheean, G. (2003). Limb and occupational dystonia. In Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp.195-203.

Silberstein, S. et alli. (2000). Botulinum toxin type A as a migraine preventive treatment. For the Botox migraine clinical research group. *Headache*, 40, pp. 445-450.

Simon, O. e Yelnik, P. (2010). Managing spasticity with drugs. *European journal of physical and rehabilitation medicine*, 46(3), pp. 401-405.

Singh, J. (2013). Use of botulinum toxin in musculoskeletal pain. *F1000 Research* 2013, 2(52), pp. 1-22.

Sobel, J. (2005). Botulism. *Food Safety*, (41), pp. 1167-1173.

Sommer, B. e Lowe, N. (2003). Cosmetics indications. *In* Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp.423-427.

Strohl, W., Rouse, H., Fisher, B. (2004). *Microbiologia ilustrada*. Porto Alegre, Artmed, pp. 222-229.

Sulica, L., Verheyden, J., Blitzer, A. (2003). The larynx and pharynx. *In* Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp.142-155.

Szczepańska-Szerej, A. et alli. (2003). Botulinum toxin A in the treatment of stiff man syndrome. *Neurol Neurochir Pol*, 37(5), pp. 175-181.

Termine, C. et alli. (2013). Emerging treatment strategies in Tourette syndrome: what's in the pipeline? *Int Rev Neurobiol*.112, pp. 445-480.

Thomas, M. e Jankovic, J. (2003). Tics, myoclonus, stiff person syndrome, gait freezing and rigidity. *In* Moore, P. e Naumann, M. (Ed). *Handbook of botulinum toxin treatment*. (2ª). Oxford, Blackwell Science, pp. 325-326.

Ting, P. Freiman, A. (2004). The story of *Clostridium botulinum*: from food poisoning to Botox™- review. *Clin Med*, 4, pp. 258-261.

Tobías, N. et alli. (2012). Objective Tinnitus from Palatal Myoclonus. Use of Botulinum Toxin: A Case Report. *Acta Otorrinolaringol Esp*, 63(5), pp. 391-392.

Towler, H. e Lightman, S. (1996). Ophthalmology, *BMJ*, 312, pp. 889-892.

Trosch, P. (1992). Botulinum toxin A injections for the treatment of hand tremor. *Ann. Neurology*, 32 (250), abstract.

Varandas, R. (2007). Toxina Botulínica: Aplicações Terapêuticas em Oftalmologia Pediátrica. *Nascer e crescer, revista do hospital de crianças Maria Pia*, 16(3), pp. S188-S190.

Verma, G. (2013). Role of Botulinum Toxin Type-A (BTX-A) in the Management of Trigeminal Neuralgia. *Pain Research and Treatment*, 2013, pp. 1-6.

Winter, L. e Spiegel, J. (2010). Botulinum toxin type-A in the treatment of glabellar lines. *Cosmetic and Investigational Dermatology*, 3, pp. 1-4.

Wolfgang, H. et alli. (2012). Rating scales for cervical dystonia: a critical evaluation of tools for outcome assessment of botulinum toxin therapy. *J neural trasm*, 120, pp. 487-496.

Wortzman, M. e Pickett, A. (2009). The science and manufacturing behind botulinum toxin neurotoxin type A-ABO in clinical use. *Aesthetic surgery journal*, 29 (6s), pp. 36-41.

Yelnik, A. et alli. (2010). How to clinically assess and treat muscle overactivity in spastic paresis. *J Rehabil Med*, 42, pp. 801-807.

Young, S. (2013). Single treatments that have lasting effects: some thoughts on the antidepressant effects of ketamine and botulinum toxin and the anxiolytic effect of psilocybin. *J Psychiatry Neurosci.*, 38 (2), pp: 78-83.

Zesiewicz, A. et alli. (2011). Evidence-based guideline update: Treatment of essential tremor: report of the quality standards subcommittee of the american academy of neurology. *Neurology*, 77,pp.1752-1755.



Zoons, E. et alli. (2012). Botulinum toxin as treatment for focal dystonia: a systematic review of the pharmaco-therapeutic and pharmaco-economic value. *J Neurol.* 259, pp. 2519-2526.